

30	USP28によるファンconi貧血BRCA経路の制御機序	谷口 俊恭
----	------------------------------	-------

【目的】 ファンconi貧血 BRCA 経路 (FA-BRCA pathway) および相同組換え (homologous recombination : HR) はがんの発症の抑制にも、抗がん剤感受性・耐性にも関わる重要な DNA 修復経路である。我々は脱ユビキチン化酵素である USP28 がこれらの DNA 修復経路を制御すると仮説した。本研究はこの仮説を検証し、USP28 による FA-BRCA pathway および HR の制御機序を明らかにすることを目的としている。

【方法】 1. ヒト由来の培養細胞 (U2OS 細胞, HeLa 細胞, MCF-7 細胞など) において USP28 および 53BP1 を siRNA またはゲノム編集を用いて発現低下・欠損・変異させた細胞を用いた。これらの細胞に USP28 の様々な変異体を発現させて、それぞれの機能を調べた。放射線による DNA 損傷後の RAD51 foci 形成、FANCD2 foci 形成を評価した。また、DR-GFP reporter を用いて相同組換え (homologous recombination : HR)、EJ5-GFP reporter を用いて非相同末端連結 (non-homologous endjoining : NHEJ) への影響を調べた。2. TCGA の卵巣がん登録症例 (TCGA_OV) のデータを用いて USP28 mRNA 発現の高低による予後の違いを評価した。

【結果】 USP28 は FANCD2、RAD51 の DNA 損傷部位への集積を負に制御し、HR も負に制御する一方で、NHEJ へは影響を与えなかった。BRCA1 欠損細胞は HR が低下しており PARP 阻害薬高感受性を呈するが、BRCA1 欠損細胞でさらに USP28 も抑制すると HR が回復し PARP 阻害薬に耐性になった。また、卵巣がんにおいて USP28 mRNA 低発現群は高発現群に比べて予後が悪かった。USP28 は 53BP1 と相互作用することが知られていたが、USP28 と 53BP1 の相互作用に必要とされる 53BP1 の BRCT ドメインは USP28 による HR の抑制には重要ではなかった。USP28 には exon 19 にコードされている 32 amino acids (aa) からなる領域を alternative splicing のために欠く short form と、完全長の long form が存在するが、この 32 aa が USP28 による HR の抑制に必要であることがわかった。一方、USP28 の脱ユビキチン化酵素活性は HR の抑制には不必要であった。これらの結果から、USP28 が HR および FA-BRCA pathway を負に制御すること (概念図参照) が確認され、その機序の一端が明らかになった。

概念図 USP28 は相同組換えと FA-BRCA pathway を負に制御する

