

【目的】 SLFN11 は、DNA 損傷と複製ストレス応答への細胞運命決定因子であり、ウイルス感染に対する防護機能をもつ。一方、自然免疫における DNA センサー cGAS は、核内ではクロマチンに結合し、何らかのクロマチン制御を行っていることが想定される。我々は、SLFN11 が cGAS の mRNA 発現に寄与し、cGAS が SLFN11 の複製フォーク不安定化を抑制するなど、SLFN11 と cGAS の密接な機能的関連を見出した。本研究では、cGAS と SLFN11 の機能的相互作用のメカニズムを解析し、両者の生理的かつ本質的な分子機能解明を目的とする。

【方法】 cGAS 遺伝子プロモーターを Luciferase につないだレポーターを作製し、SLFN11 発現の cGAS プロモーター活性に及ぼす影響を確認した。SLFN11 欠損により cGAS 発現が消失したことが HAP1 細胞における特異的な現象の可能性があるため、両因子を発現している細胞株として、肺がん由来細胞株 A549 を用いて、SLFN11^{-/-}細胞を作製し cGAS の発現レベルを調べた。cGAS 発現ベクターやレンチウイルスを用意し、SLFN11^{-/-}HAP1 細胞に発現させた。また、cGAS^{-/-}HAP1 細胞を作製した。これにより、SLFN11 の DNA 複製フォーク保護因子への影響は直接か、cGAS を介する間接的なものかを検証した。iPS 細胞におけるノックアウトとインビトロ造血分化系による機能の検証をつづけた。

【結果】 まず、HAP1-SLFN11^{-/-}細胞を親株にして、Tet-on システムによって SLFN11 を単独発現する細胞、cGAS 単独発現細胞、SLFN11 と cGAS 両方を発現する細胞を作製した。これらの細胞と、HAP1 野生型細胞と HAP-SLFN11^{-/-}細胞を用いた Hydroxyurea (HU) 感受性試験では、SLFN11^{-/-}細胞に SLFN11 や cGAS を発現させた細胞において高い HU 感受性が見られ、SLFN11 と cGAS 両者を発現させると野生型と同等の感受性を戻すことができた。DNA ファイバーアッセイでは、SLFN11^{-/-}細胞において SLFN11 を単独発現させると複製フォーク分解が起こり、cGAS 単独発現細胞でも軽度複製フォーク分解が促進された。しかし、SLFN11 と cGAS の両方の発現細胞では、SLFN11 による複製フォーク分解が cGAS 発現によってキャンセルされていた。これらの結果から、cGAS は単独では複製フォーク分解を促進し、かつ SLFN11 による複製フォーク分解を阻害することが示唆される。一方、複製フォーク安定性と薬剤感受性が完全には相関しないという矛盾が生じた。cGAS の単独発現細胞における薬剤感受性の結果は今後のさらなる検討が必要である。本研究の結果は cGAS が何らかのメカニズムによって SLFN11 による複製フォーク分解に抑制的に働くという関連性を明らかにした。

複製フォーク保護因子をめぐる SLFN11 と cGAS の機能的相互作用

