

傷ついた遺伝子がもたらすもの：複製と転写への影響

中別府，雄作
九州大学・生体防御医学研究所・生化学部門：教授

<https://doi.org/10.15017/7237131>

出版情報：福岡醫學雑誌. 90 (7), pp.311-317, 1999-07-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：



解 説

傷ついた遺伝子をもたらすもの：複製と転写への影響

九州大学・生体防御医学研究所・生化学部門教授
中 別 府 雄 作

はじめに

我々の体は、細胞の核内に格納されたデオキシリボ核酸 (deoxyribonucleic acid : DNA) が持つ遺伝情報に従って発生・分化・成長し、いろいろな生命機能を発揮している。ところで、この DNA はその化学的な安定性ゆえに遺伝子の本体として進化してきたと考えられる。しかしいくら安定な化合物といっても、DNA はいろいろな化学反応の場に曝されると種々の化学的修飾を受ける。我々の体を造っている細胞内では生命を維持するために多様な化学反応が進行している。そのために遺伝情報を担う DNA も細胞内で自然発生的にいろいろな修飾すなわち傷を受けている。DNA は、その塩基配列の並びにしたがった自己複製によって遺伝情報を子孫へと伝達し、さらに細胞内では RNA、タンパク質へとその情報を伝えることで生命活動を規定している。DNA 上に生じた傷 (化学的修飾) は、遺伝情報ひいては生体にどのような影響を及ぼすのであろうか。

DNA の自然発生的な損傷

DNA はアデニン、グアニン、チミン、シトシンの4つの塩基の並びで遺伝情報を規定しているが、これら4つの塩基は細胞内で自然発生的な化学修飾、すなわち損傷を受ける。細胞内で起こる塩基の化学修飾として (1) 脱プリン化、(2) 脱アミノ化、(3) 酸化がもっとも頻繁に起こる反応である。図1にこれらの化学修飾による DNA の損傷を示す¹⁾²⁾。

DNA 中の4つの塩基はある頻度で N-グリコシド結合の自然開裂を受け、遊離の塩基として放出される。プリン はピリミジンよりもかなり不安定で、DNA からのプリンの放出を脱プリン化とよぶ。脱プリン化によって DNA 主鎖 (リン酸ジエステル結合) が切断されることはないが、塩基のない脱塩基部位が DNA 配列中に残されることになる。ヒト細胞では、一細胞周期中にゲノム全体で 2000 から 1 万塩基程度が脱プリン化反応で失われる。

塩基の中でアミノ基を持つシトシンとアデニンは脱アミノ化を受ける。脱アミノ化によりシトシンはウラシルに、アデニンはヒポキサンチンに変化する。哺乳動物のゲノム DNA 中には、正常な修飾塩基としてシトシンの5位がメチル化された 5-メチルシトシンが存在する。DNA の中に CpG の配列として存在するシトシンがメチル化を受けるが、この 5-メチルシトシンが脱アミノ化を受けるとチミンが生じる。通常 5-メチルシトシンはグアニンと対合しているが、脱アミノ化により G : T ペアが生じる。

さらに、DNA 中の塩基は酸素が部分的に還元されて生じる活性酸素により酸化される。酸素呼吸を行う好気性生物では活性酸素が生じるのは不可避の反応であり、DNA の自然酸化も避けられない。数多くの酸化塩基が生じるが、この中で図1に示すグアニンの酸化体、8-オキシグアニンが最も多く生じるようである³⁾。

シトシンの脱アミノ化とグアニンの酸化反応は、ヒト細胞では一日に 100 から 500 回起こっていると計算されている。このほかにも、DNA は非酵素的な反応でメチル化を受けたりデオキシリボースが酸化されて開裂することも

Yusaku NAKABEPPU

Department of Biochemistry, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

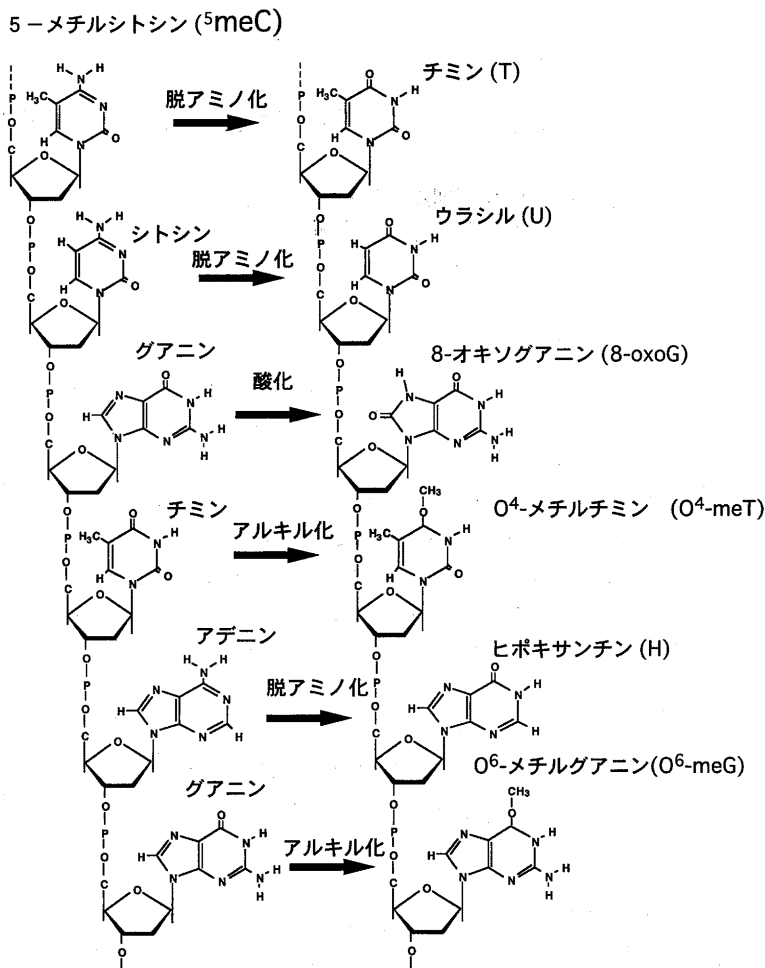


図1 自然発生するDNAの傷

DNAはかなり安定な高分子であるが、脱アミノ化、酸化そしてアルキル化などの反応によって塩基が自然に修飾され、間違った塩基対合を生ずる原因となる。

ある。

DNA の傷と複製

上に述べたように DNA は通常の状態でも様々な化学的修飾, すなわち傷を受ける。このような DNA の傷は生物にとってどのような意味を持つのであろうか。DNA は遺伝子の本体であり, 細胞分裂をへて親細胞から娘細胞へ, 個体レベルでは親から子へと伝えられるものである。遺伝子が分裂した 2 つの娘細胞に等しく伝えられるには, 全く同じ遺伝子のコピーが造られることが必要である。DNA はアデニンとチミン, グアニンとシトシンの特異的な塩基対合によって相補的な塩基の並びを持つ二本の DNA 鎖がらせん状に絡み合ったものである。この塩基対合の特異性が全く同じ遺伝子のコピーを造る鍵である。すなわち, 細胞分裂に先立っては, 二本鎖の DNA がほどけて, それぞれの古い DNA 鎖を鋳型として相補的な塩基を DNA ポリメラーゼと呼ぶ酵素が重合させていき, 最終的に元の二本鎖と同じ塩基の並びを持つ DNA が 2 組出来上がる。この過程を DNA の複製と呼ぶが, この段階で鋳型

DNA に傷があった場合複製は途中で止まったり、間違った塩基を取り込んだりするようになる。たとえば、鋳型 DNA 中に脱プリン反応で塩基を失った場所や酸化チミン (チミングリコール) が存在すると、DNA ポリメラーゼは複製を停止してしまう。一方、シトシンや 5-メチルシトシンの脱アミノ化で生じたウラシルとチミンはアデニンと対合するために、図 2 に示すように 2 回の複製によって C:G 塩基対だったものが T:A 塩基対へと変化する。このような DNA の塩基配列の変化を突然変異と呼ぶ。DNA に生じた傷は、このように DNA 複製を阻害するものと突然変異を引き起こすものとに分けられる³⁾。DNA 複製が阻害されると細胞分裂の進行が阻害され、細胞は死に至ることが多い。突然変異を引き起こすような傷の場合、細胞は死ぬことはまれであるが、突然変異の起こった遺伝子によっては、細胞のがん化を引き起こす¹⁾²⁾。たとえば、プロトオンコジンの 1 つである *ras* やがん抑制遺伝子 *p53* の突然変異はヒトのがんでよく見られる。突然変異が精子や卵の形成過程で生じ、そのまま子供に伝わると遺伝病となる。

DNA の傷と転写

DNA に塩基配列として保持されている遺伝情報は、RNA ポリメラーゼと呼ぶ酵素が触媒する転写と呼ばれるプロセスで mRNA に写し取られる。この転写時には、塩基対合の特異性にしがたって DNA 上の塩基配列が相補的な配列として mRNA へ伝えられる。さらに mRNA に写し取られた情報がリボソーム上でアミノ酸の並びに翻訳さ

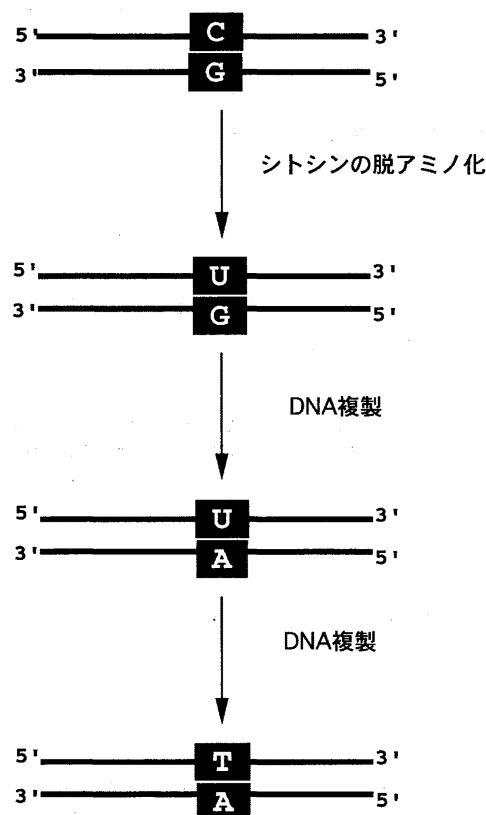


図 2 脱アミノ化と突然変異

シトシンが脱アミノ化を受けウラシルになると複製の際にウラシル (U) に対してアデニン (A) が取り込まれる。次の複製でアデニンに対してチミン (T) が取り込まれ、結果として C:G から T:A への塩基置換が生ずる。

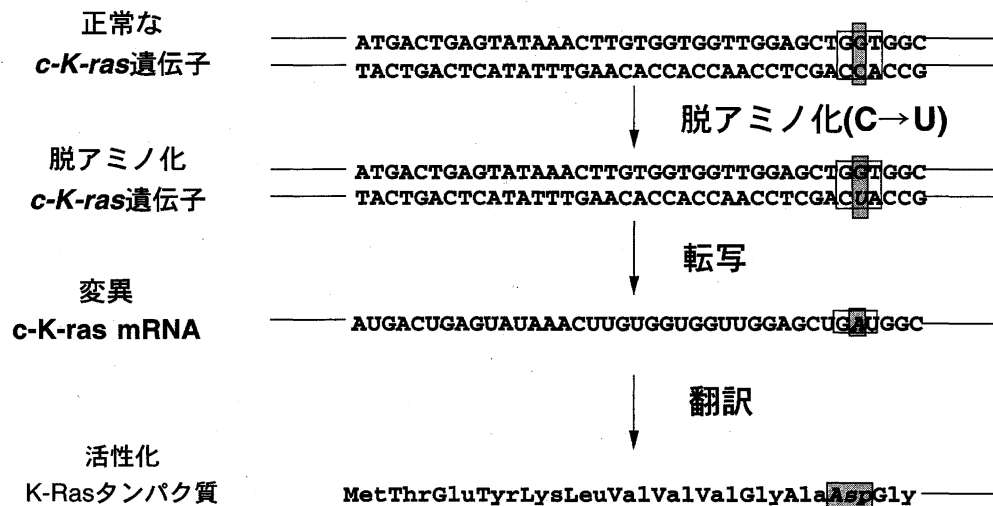


図4 マウス *c-K-ras* 遺伝子の脱アミノ化と活性化 K-Ras タンパク質
十二番目のコドン (GGT) の相補鎖のシトシン (C) が脱アミノ化されてウラシル (U) になると転写の際に mRNA の鋳型となる配列が CUA となり、mRNA としては GAU コドンを持つものが合成される。結果として、十二番目のアミノ酸はグリシン (Gly) からアスパラギン酸 (Asp) へ変化し、活性化型の K-Ras タンパク質が合成される。

のであろうか？ これは分子生物学上非常に新しい問題であるが、かなり以前から別な言葉で指摘されていた問題と共通点があると思われる。それは老化に関わる作業仮説の1つ、「老化は、細胞機能の低下に伴い生じた異常タンパク質の蓄積が原因である」という考え方である。非分裂細胞で傷を持つ遺伝子が転写されると当然前節で述べたように間違った配列を持つ mRNA が合成され、翻訳を経て変異タンパク質が合成され、蓄積する可能性がある。

変異を持つタンパク質には、変異によりその基本的な機能をほとんど喪失してしまうもの（機能喪失型）が一般的には知られている。非分裂細胞で、1つの機能タンパク質の遺伝子が傷を受け、その遺伝子から機能を喪失した変異タンパク質しか供給されない場合、細胞は正常機能を維持する能力が低下すると考えられる。ただ、ヒト細胞は一对の対立遺伝子を持つために、2つの遺伝子座が同じように傷を受けることは稀と考えられ、機能喪失型の変異タンパク質を生じるような遺伝子の傷が問題となるのは、性染色体上の遺伝子のように一对立遺伝子のみしか存在しないか、発現していない遺伝子に限定される。ただし、その他の常染色体でも、遺伝的刷り込みにより両親由来の遺伝子対のうち一方のみしか発現しないように制御されている遺伝子も存在するので、その影響がどの程度まで及ぶのかはまだ明らかではない。

変異によるタンパク質の機能の変化としてより重要なものは、そのタンパク質が本来持っている機能に加えて新たな機能を獲得する場合（機能獲得型）である。このような機能獲得型の変異として良く知られているのは、プロトオンコジーン *ras* の変異である。

Ras タンパク質の12番目のアミノ酸は、その変化によっては Ras タンパク質を常に活性化型 (GTP 結合型) に維持するようになる(図4)。このような活性化型 Ras タンパク質が存在すると、細胞内ではいろいろなシグナル伝達系が活性化されつづけた状態となり細胞は恒常性を失う。そのもっとも良く知られたケースは、細胞のがん化である。がん細胞では Ras タンパク質が活性化型になるような突然変異が遺伝子レベルで頻繁に見つかっている。それでは、このような活性化 Ras タンパク質を合成させるような遺伝子の傷が非分裂細胞で生じた場合、どのような影響が考えられるのであろうか。活性化 Ras タンパク質は正常な Ras タンパク質が存在してもそれとは独立にシグ

ナル伝達系を活性化する。すなわち、ごくわずかの活性型の Ras タンパク質が存在するだけで細胞内のシグナル伝達の恒常性は乱されると思われる。例えば、細胞増殖を休止している幹細胞や前駆細胞でこのような活性型の Ras タンパク質が合成されると、これらの細胞は増殖サイクルへ移行する可能性が高い。一旦、増殖サイクルへ移行しそのゲノム DNA が複製されると、*ras* 遺伝子上の傷は突然変異として固定されてしまい、少なくとも分裂で増えた細胞のうち 1 つの娘細胞は、常に活性化 Ras タンパク質を合成し続けることになる。このように活性化型の Ras タンパク質により細胞増殖を活性化された細胞は、増殖を続ける過程でさらに他の遺伝子に変異を持つものが生じ、最終的にはがん化に至る可能性が高い。

一方、このような機能獲得型の変異タンパク質を生じるような傷が終末分化細胞、例えば脳・神経細胞に生じた場合、どのような問題が生じるのであろうか。脳・神経細胞においても Ras タンパク質はそのシグナル伝達系の制御に重要な役割を持っており、活性化 Ras タンパク質が存在すると脳・神経細胞のシグナル伝達系の恒常性も破たんすると考えられる。脳・神経細胞はもはや増殖はしないが、シナプスを介した他の神経細胞の興奮や抑制といった影響も考慮する必要がある。増殖性の細胞とは違う影響が考えられる。ここでは、Ras タンパク質だけを例にとって説明を加えたが、細胞内にはまだまだ我々の理解していない遺伝子やタンパク質が存在するので、それらの遺伝子に生じた傷の影響は計り知れないものがある。

DNA の傷を治すシステム：DNA 修復酵素の意義

我々は、これまで DNA の傷を治す修復酵素の研究を 20 年来続け、細胞は基本的に遺伝子 DNA の傷が生じるとそれを特異的に、かつ効率良く認識し修復するシステムを発達させていることを明らかにしてきた。このような研究は、当初大腸菌などの原核生物を中心に研究が進められたが、現在ではヒトを始めとする真核生物でも同様な、あるいはさらに精緻な修復システムが存在することが明らかにされつつある。

DNA 修復システムの存在が、これまで論じた傷ついた遺伝子が生体に及ぼす悪影響を最小限にとどめていると考えられる。実際、発がんの多くが DNA 修復システムの異常に起因する可能性がヒトの家族性非腺腫大腸がんなどの研究から明らかになってきた¹²⁾。しかしながら、脳・神経系の恒常性維持については、これらの細胞がもはや分裂増殖しないことからこれまで DNA 修復システムの重要性は注目されていなかった。我々は、本稿で論じてきたように、非分裂細胞のゲノム DNA の傷も修復されないとその細胞の機能障害をもたらすとの考えに立ち、特に脳・神経系の細胞の老化と細胞死に注目して研究を進めている³⁾⁵⁾。

最後に、

本稿では核ゲノム DNA の傷とその修復についてのみふれたが、真核細胞では、核以外にミトコンドリアもそれ自身のゲノム DNA を持ち、細胞機能の維持に貢献している。当然ながら、ミトコンドリアの DNA もいろいろな傷を受けることが知られており、特に酸素呼吸の過程で常に生じる活性酸素による酸化が最も重大な傷のようである。我々は、最近ミトコンドリアにも核と同じような酸化塩基の修復系が存在することを明らかにした³⁾⁴⁾。ミトコンドリアは分裂、非分裂細胞を問わずエネルギー産生に必須のオルガネラである。この観点からも、非分裂細胞での DNA 修復系の重要性が示唆される。

文 献

- 1) 中別府雄作：細胞のがん化とミューテーター変異，化学と生物 第 34 巻：715-724，1996。
- 2) 中別府雄作：遺伝子変異の機構，図説分子病態学（第 2 版，一瀬白帝，鈴木宏治編集）中外医学社，pp 93-100，1998。
- 3) Nakabeppu Y: Defense Mechanisms against Oxidative Damages of Nucleic Acids in Mitochondria: Implication in Neuronal Cell Death. J.J. Clin. Chem. 27 (4), 210-222, 1998.
- 4) Nishioka K, Ohtsubo T, Oda H, Fujiwara T, Kang D, Sugimachi K and Nakabeppu Y: Expression and

differential intracellular localization of two major forms of human 8-oxoguanine DNA glycosylase encoded by alternatively spliced OGG1 mRNAs. *Mol. Biol. Cell.* 10, 1637-1652, 1999.

5) Viswanathan A, You HJ and Doetsch PW: Phenotypic change caused by transcriptional bypass of uracil in nondividing cells. *Science* 284, 159-162, 1999.