

生化学部門 Department of Biochemistry

生物にとって、その遺伝情報を担うゲノム DNA を細胞から細胞へ、親から子へと正確に伝え維持することは最も基本的な生物学的機能であるが、ゲノム DNA やその前駆体であるヌクレオチドは、酸素呼吸の過程で必然的に発生する活性酸素や生体防御のために生体が能動的に産生する活性酸素によって酸化される危険に常に曝されている。このような酸化障害がゲノム中に蓄積すると突然変異を引き起こすことで細胞のがん化の原因となり、あるいは細胞死をひき起こすことで多くの変性疾患の原因になると考えられる。生化学部門では、分裂能を持つ細胞の障害として「がん」に、また非分裂細胞の障害として脳・神経系の老化と変性疾患（パーキンソン病やアルツハイマー病）、特に「神経細胞死」の機構に注目して「活性酸素によるゲノム障害とその防御機構」の解明を目指して研究を進めている。我々は、さらにゲノム障害から細胞のがん化や細胞死に至るメカニズムについても研究を進めている。プロトオンコジーンの *jun* や *fos* は、ゲノムが障害を受けるとその発現が誘導され、その恒常的な発現は細胞のトランスフォーメーション、また場合によってはアポトーシスをひき起こす。ゲノム障害からいかなるメカニズムで細胞のがん化や細胞死がひき起こされるのか、*fos* ファミリー遺伝子の 1 つである *fosB* 遺伝子を中心に、細胞レベルと個体レベルでの研究を進めている。また、Jun、Fos 蛋白質は脳・神経の機能制御に関わることが明らかにされつつあり、この観点からの研究も進めている。

人事異動は次の通りであった。大学院生では、平成 9 年 3 月 31 日付で五十嵐久人（内科系専攻）が当部門での基礎履修を終了、学位取得の上臨床教室にもどった。岩熊智雄（外科系専攻）は、基礎履修を終了、学位取得の上カナダ・アルバータ大学へ留学した。小田尚伸（内科系専攻）は基礎履修を終了し、同 4 月 1 日付で熊本大学・医学部・遺伝発生医学研究施設・遺伝制御部門の助手として赴任した。研究生の白石明子は、同 3 月 31 日をもって研究期間満了につき退学した。

平成 9 年 3 月 28 日から 5 月 26 日までの 60 日間、NIH（米国国立保健研究所）短期招へいプログラム（日本学術振興会）の依頼を受けて、米国 Johns Hopkins 大学・大学院生の Lesley Renita Brown を受け入れ、共同研究を行なった。平成 9 年 8 月 16 日付で、当部門の新任教授に助手の中別府雄作が昇任した。米国テキサス大学 MD アンダーソン癌研究所に留学中の古市正人が、同 8 月 31 日に助手に復職した。同 9 月 1 日付で大学院生西岡憲一（外科系専攻）が生化学部門で基礎履修を始めた。また同 11 月 31 日付で事務補佐員の雨宮真美が退職し、同 12 月 1 日付で常岡倫子を事務補佐員として採用した。

平成 10 年 1 月 1 日付けで大学院生の富永洋平（外科系専攻）が単位取得、退学の上非常勤研

究員に採用された。また、同日付で大塚製薬株式会社・微生物学研究所の土本大介が研究生（A）として入学した。助教授の續輝久が、同2月1日付で九州大学・医学部・放射線基礎医学教室の教授に専任配置換えとなった。同3月31日付で大学院生の藤井喜充（外科系専攻）、大坪俊夫（内科系専攻）が当部門での基礎履修を終了し、それぞれの臨床教室にもどった。河手久弥は、平成10年度の日本学術振興会研究員（医学部内科学第三教室）に採用されたため、同日をもって当部門の非常勤研究員を辞した。

A. 活性酸素によるゲノム障害とその防御機構

生化学部門では、これまで活性酸素による酸化障害の対象として遺伝子の本体であるDNAに注目し、その酸化障害の化学的実体と障害に対する防御機構の解明を進めてきた。この研究の過程で、活性酸素はDNAと直接反応してその切断や塩基の酸化をひき起こすだけでなく、DNAの前駆体であるデオキシリボヌクレオシド三リン酸を直接酸化する事を明らかにした。dGTPの酸化体の1つである8-オキシデオキシグアノシン三リン酸（8-oxo-dGTP）は、DNA複製に際して鋳型DNA上のアデニンに対して取り込まれて誤った塩基対合を形成し、遺伝情報の正確な伝達と発現を妨げる。GTPの酸化体である8-oxo-GTPも同様に生じるが、これは遺伝子の転写の際に誤ってUTPの代りにRNAに取り込まれ、遺伝情報の正確な発現を妨害する。我々は、このような核酸の酸化障害に対する生物の防御機構について研究を進め、表1に示すように、（1）ヌクレオチドプールからの酸化ヌクレオチドを分解、排除するシステムと、（2）ゲノムDNA中に存在する酸化塩基の除去修復システムが、「活性酸素による核酸の酸化に対する生体防御機構」として、大腸菌からヒトまで普遍的に存在することを明らかにした。平成9年度は以下の研究を進めた。

表1. 8-オキシグアニンに起因する自然突然変異を抑制する機構

アデニン DNA グリコシラーゼ	8-オキシグアニン DNA グリコシラーゼ	8-Oxo-dGTPase
A 8-oxoG ↓ A + 8-oxoG	C 8-oxoG ↓ C + 8-oxoG	8-oxo-dGTP ↓ 8-oxo-dGMP + PPi
<i>E. coli</i> : <i>mutY</i> (G:C → T:A x100 ↑)	<i>E. coli</i> : <i>mutM</i> (G:C → T:A x10 ↑)	<i>E. coli</i> : <i>mutT</i> (A:T → C:G x1000 ↑)
<i>S. cerevisiae</i> : ?	<i>S. cerevisiae</i> : OGG1	<i>S. cerevisiae</i> : ?
<i>S. pombe</i> : <i>SpMYH</i>	<i>S. pombe</i> : ?	<i>S. pombe</i> : ?
<i>A. thaliana</i> : ?	<i>A. thaliana</i> : <i>AtMMH</i>	<i>A. thaliana</i> : ?
human: <i>MYH</i>	human: <i>OGG1</i>	human: <i>MTH1</i>

E.coli : 大腸菌, *S.cerevisiae* : 出芽酵母, *S.pombe* : 分裂酵母, *A.thaliana* : シロイヌナズナ
大腸菌の3つの変異株において観察されている自然突然変異の種類とその野生株に対する上昇率を示す。

a. ヌクレオチドプールからの酸化ヌクレオチドの分解と排除システム

(1) ヒト *MTH1* 遺伝子の発現とその転写産物の構造 (小田, 古市, 中別府)

ヒト各種臓器での *MTH1* mRNA の発現をノーザンブロットで解析したところ, 調べた全ての臓器 (21種類) で発現が確認されたが, 特に細胞分裂の盛んな胸腺や精巣, 胎児肝臓で発現が高かった. 成人の神経系での発現は脳, 小脳, 網膜で比較的高い発現が見られ, 胎児脳ではさらに高い発現レベルであった. 我々は, ヒト培養細胞株から調製した *MTH1* mRNA の5'末端領域を cDNA として増幅し, その塩基配列とゲノム遺伝子の塩基配列の比較解析から, ヒト *MTH1* 遺伝子は, 5つの主要エクソンからなり, エクソン1が1aと1b, エクソン2が2a, 2b, 2cの3つのセグメントからなり, これらの択一的スプライシングにより7種類の mRNA (Type 1, 2A, 2B, 3A, 3B, 4A, 4B) をコードすることを明らかにした (図1). さらに, 健康人ボランティアの末梢血リンパ球と胸腺から調製した *MTH1* mRNA の解析からヒト臓器でもこれらの7つの *MTH1* mRNA が発現していることを確認した. 健康人ボランティアの一人は, 4つのタイプ (Type 1, 2B, 3B, 4B) の *MTH1* mRNA のみ発現していたが, その配列とゲノム遺伝子配列の解析から, エクソン2の2b-2c間の5'スプライシング部位 (GTGA) の配列が (GCGA) に置換されており, 2b-2c間でスプライシングがおこらず, 2b-2cが連結した *MTH1* mRNA のみが生じることが明らかになった. 本研究所遺伝学部門 (笹月教授) で樹立された複数の健康人ボランティア由来のリンパ球細胞株のゲノム配列の解析から, このT→Cの塩基置換は遺伝的多型性の1つであることが明らかになり, その存在比は約4:1であった.

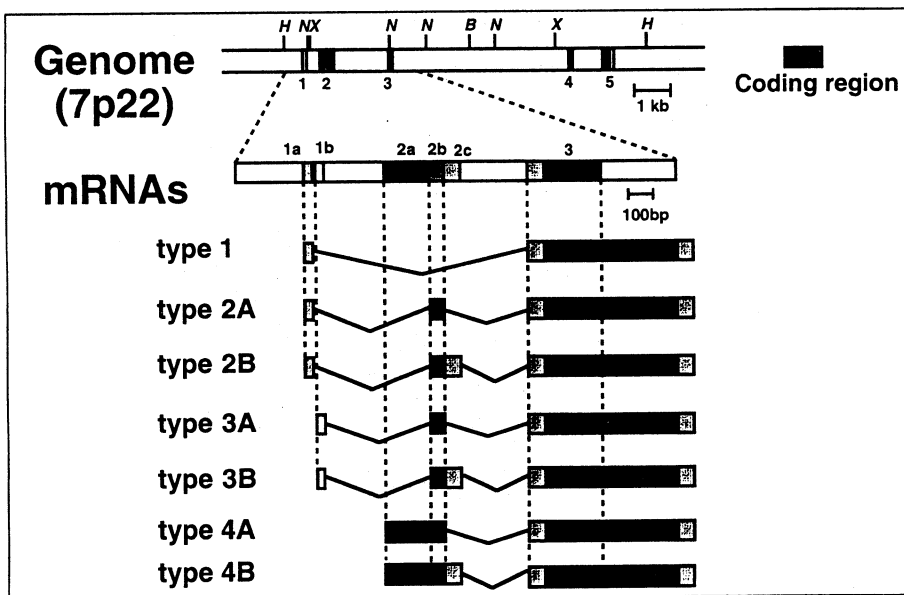


図1. ヒト *MTH1* 遺伝子の構造とその転写産物

(2) 部位特異的アミノ酸置換法によるヒト MTH1変異蛋白質の解析 (藤井, 下川, 中別府)

ヒト MTH1蛋白質とその大腸菌 homolog である MutT 蛋白質の間で高度に保存されている領域 (36番目の Glycine から58番目の Glycine まで) は loop 構造と α -helix を形成し, 8-oxo-dGTPase の活性ドメインを形成すると考えられている (図2). この MutT と MTH1蛋白質の活性ドメインが機能的に等価であるかどうかを解析するため, 大腸菌 MutT の活性ドメインをもったキメラ蛋白質 (MTH1-Ec) を作成した. 大腸菌内で発現させたこのキメラ蛋白質は, 37℃では発現量, 8-oxo-dGTPase 活性ともに正常なヒト MTH1蛋白質の30%のレベルまで減少し, *mutT*欠損株で上昇している自然突然変異をわずかに抑制するのみであった. ところが, 30℃では発現量が正常なヒト MTH1蛋白質の1.7倍に増加し, 8-oxodGTPase 活性も比活性で60%程度の活性を維持し, 突然変異抑制能もその活性に対応するレベルであった. この結果から, 大腸菌 MutT とヒト MTH1蛋白質の活性ドメインは一定の条件下で相互置換が可能であり, その構造と機能は2つの蛋白質間で等価であることが明らかになった. さらに詳しくヒト MTH1蛋白質の活性ドメインの構造と機能を理解するため, 部位特異的アミノ酸置換法によりこのドメイン全てのアミノ酸残基について変異蛋白質を作成し, その発現と機能について解析を行った.

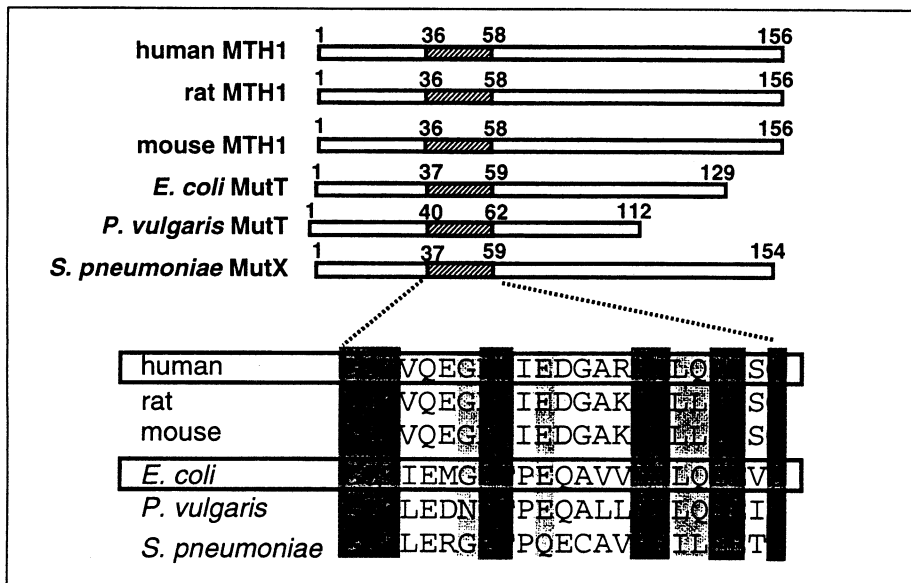


図2. MutT ホモログ蛋白質

MutT ホモログ蛋白質は、哺乳類（ヒト，マウス，ラット）とバクテリア（大腸菌，プロテウス菌，肺炎球菌等）で存在が明らかにされている．6種の MutT ホモログの活性ドメインに保存されているアミノ酸残基を保存アミノ酸，ヒトと大腸菌でのみ共通のものを半保存アミノ酸，それ以外を非保存アミノ酸と分類した．保存アミノ酸のうち44Thr, 58Gly は置き換えが可能であったが，蛋白質の安定性や8-oxo-dGTPase 活性は，野生型よりもすべて低レベルであった．半保存アミノ酸のなかでは，42Gly, 46Glu の置き換えが可能であった．非保存アミノ酸の中でも，39Val, 41Glu, 45Ile, 49Ala, 57Ser は他のアミノ酸に置き換えができず，ヒト MTH1の機能に必須である事を証明した．現在，得られた結果の普遍性を確認するために大腸菌 MutT 蛋白質の活性ドメインについて，同様の解析を進めている．

（3）MTH1遺伝子欠損細胞及びマウスの樹立と解析（續，五十嵐，岩熊，富永，木下，作見，中別府）

哺乳動物における MTH1蛋白質の自然突然変異，自然発癌の抑制における役割を解明する目的で，ネオマイシン耐性遺伝子カセットを挿入した変異MTH1遺伝子の標的遺伝子組換えによりMTH1遺伝子欠損胚性幹細胞（ES）細胞を樹立した．さらに高濃度の G418耐性の ES 細胞を選択することにより，ES 細胞レベルで2つの対立遺伝子ともに変異しているMTH1遺伝子完全欠損細胞（ $MTH1^{-/-}$ ）を樹立した．HPRT 遺伝子座を対象にこのMTH1欠損細胞の自然突然変異率（6-チオグアニン耐性）を測定したところ，野生型細胞（ $MTH1^{+/+}$ ）と比較して自然突然変異率が2倍上昇していることが明らかになった．次に，この一方の対立遺伝子の変異を持つ ES 細胞（ $MTH1^{+/-}$ ）を出発材料にヘテロの遺伝子欠損マウス（ $MTH1^{+/-}$ ）を樹立した．このヘテロ欠損マウスの交配でホモ欠損（ $MTH1^{-/-}$ ）のマウスがメンデル遺伝に従って得られたことから，MTH1遺伝子を欠損してもマウス個体として正常に発生，成長することが明らかになった．次に，通常の SPF 飼育条件下で1年半を経過した時点のマウス個体（ $MTH1^{-/-}$ マウス雌雄各33, 39匹， $MTH1^{+/+}$ マウス雌雄各23, 30匹）について剖検を行い腫瘍を中心に解析を行ったところ， $MTH1^{-/-}$ マウス個体群においてのみ胃の腫瘍の発生が5例（カルチノーマ：2例，アデノーマ：3例）認められた．このような胃の病変は野生型（ $MTH1^{+/+}$ ）には全く見られず，有意差（ $p=0.02$ ）のある結果であった．マウスでは野生型（ $MTH1^{+/+}$ ）でも肺及び肝臓の腫瘍が認められたが，このような腫瘍についても $MTH1^{-/-}$ マウス群で有意差は得られなかったものの発症頻度の上昇が観察された．この結果は，8-oxodGTP の生成が哺乳動物において突然変異や癌の原因となっている可能性を示しており，いわゆる自然発癌の成因と機構を考える上で重要な示唆を与える．

b. ゲノム DNA 中に存在する酸化塩基の除去修復システム

(1) 真核生物の *mutM* ホモログの単離同定と解析 (大坪, 中別府)

大腸菌 MutM 蛋白質のホモログの存在をゲノムデータベースにおいて検索したところ, 原核生物には, 普遍的に MutM ホモログが存在することを明らかになった. 真核生物においては酵母に大腸菌 MutM とはホモロジーのない Ogg1 蛋白質が発見されたことから, *mutM* ホモログ遺伝子は原核生物に特有の遺伝子と考えられたが, このホモロジー検索において EST データベースから高等植物シロイヌナズナに MutM のアミノ末端のアミノ酸配列と相同な配列をコードし得る mRNA が存在する可能性が示唆された. そこで, 我々はシロイヌナズナからこの cDNA の全長と核ゲノム遺伝子をクローニングし, その構造と遺伝子産物の機能を解析した. その結果, このシロイヌナズナの cDNA にコードされる蛋白質は, 8-オキシグアニン DNA グリコシラーゼ酵素活性を有し, 構造上も MutM 蛋白質と高いホモロジーを持つことが明らかになった. 我々は, このシロイヌナズナの遺伝子を *AtMMH* (*Arabidopsis thaliana mutM* *homolog*) と命名した. この AtMMH 蛋白質は, 原核生物の MutM ホモログの中で植物の祖先に由来すると考えられるラン藻の MutM ともっともホモロジーが高く, さらにそのカルボキシ末端に他の真核生物の核内蛋白質に見られるモチーフが複数付加されている構造を持っていた.

(2) 8-オキシグアニン-DNA グリコシラーゼをコードする哺乳類の遺伝子とその解析 (西岡, 大坪, 木下, 富永, 續, 中別府)

我々は, 以前にヒトやマウスなどの哺乳動物細胞にも8-オキシグアニン-DNA グリコシラーゼ活性が存在することを生化学的に確認していた. EST データベースの検索から酵母の Ogg1 と相同性の高い蛋白質をコードする cDNA の存在が明らかになったので, ヒトとマウスよりその cDNA と遺伝子をクローニングしその解析を進めた. ヒト各種臓器での *OGG1* mRNA の発現をノーザンブロットで解析したところ, 調べた21の臓器で発現が確認されたが, *MTH1*とは異なり, 成人の脳と胎児脳で最も高い発現が見られた. ヒト *OGG1* 遺伝子は, 択一的スプライシングにより少なくとも4つのアイソタイプ (A1, A2, B1, B2) の *OGG1* タンパク質をコードする事が示唆された. 現在, ヒト Jurkat 細胞からの核抽出液を出発材料として8-オキシグアニン-DNA グリコシラーゼの精製を進め, *OGG1* 遺伝子産物との関係を解析している. さらに, 個体レベルでの *OGG1* 遺伝子の機能解析をすすめる目的で, 129系統のマウスから *OGG1* cDNA, 遺伝子をクローニングし, 標的組換えによる *OGG1* 遺伝子欠損胚性幹細胞を樹立した. 現在, キメラマウスの交配を進めている.

(3) アデニン DNA グリコシラーゼをコードする哺乳類の遺伝子とその解析 (下川, 富永, 大坪, 木下, 續, 中別府)

我々は、ヒトやマウスなどの哺乳動物細胞にもアデニン DNA グリコシラーゼ活性が存在することを生化学的に確認した。EST データベースの検索から大腸菌の MutY と相同性の高い蛋白質をコードする cDNA (MYH) の存在が明らかになったので、ヒトとマウスよりその cDNA と遺伝子をクローニングし、その解析を OGG1 同様に進めている。

B. Jun/Fos 核内転写因子による細胞機能の制御 (作見, 中別府)

Jun, Fos 蛋白質は細胞をトランスフォームする能力を持ち、さらに細胞と環境によっては細胞死 (アポトーシス) を誘発することから細胞の増殖制御とがん化、さらに細胞死の制御に重要な役割を担っていると考えられている。しかし、細胞増殖や細胞死の制御、さらにがん化の過程でこれらの蛋白質がどのような役割を持つのか、その詳細は未だ明らかにされていない。Jun, Fos 蛋白質が転写因子 AP-1 として複合体を形成して標的遺伝子の転写を活性化することから、細胞増殖を促進する作用を持つ遺伝子の発現を誘導することで細胞をがん化させると考えられたが、今日に至るまで、その標的遺伝子は特定されるに至っていない。我々は、AP-1 としての転写活性可能を欠く Δ FosB が転写活性可能を持つ FosB と同様に細胞をがん化する機能を持つことに注目して、そのがん化機構の解明を目指している。また、個体レベルでは Jun, Fos の発現は脳神経組織で大きな変動をすることが明らかにされつつあり、脳機能の制御にも Jun, Fos が重要な役割を担う可能性が示されつつある。我々は、細胞レベルと個体レベルの両方から Jun, Fos 核内転写因子の生理的な役割を解明することを目指している。

a. 細胞増殖と細胞死における FosB と Δ FosB の役割

Jun, Fos ファミリーの中で、唯一選択的スプライシングにより 2 つの蛋白質 (FosB と Δ FosB) をコードする *fosB* 遺伝子に注目してその基礎的な解析を進めてきた。FosB とそのスプライシングバリエーション Δ FosB を血清飢餓下の Rat1A 細胞にそれぞれ過剰発現させると、細胞は増殖サイクルへ移行するが、AP-1 としての転写活性化能を抑制的に制御する Δ FosB が、転写活性化能を持つ FosB よりも効率よく増殖サイクルへの移行を活性化した。しかし、 Δ FosB による細胞増殖は一回のみで、細胞は増殖終了後ゆっくりと死滅した。この細胞死は遅延型のアポトーシスと考えられ、細胞死に先立って p53 mRNA の高発現が確認された。 Δ FosB の発現に伴い、細胞内のサイクリン E/CDK2 mRNA のレベルが上昇したが、これは mRNA の安定化に由来するもので、転写レベルの増大には依存していなかった。このサイクリン E/CDK2 の発現上昇がアポトーシスを引き起こす直接の原因となっている可能性が示唆され、現在これを確認する実験を計画している。一方、FosB は c-Fos と同じようにゆっくりとした細胞の増殖と形態の変化 (トランスフォーメーション) を誘導した (図 3)。

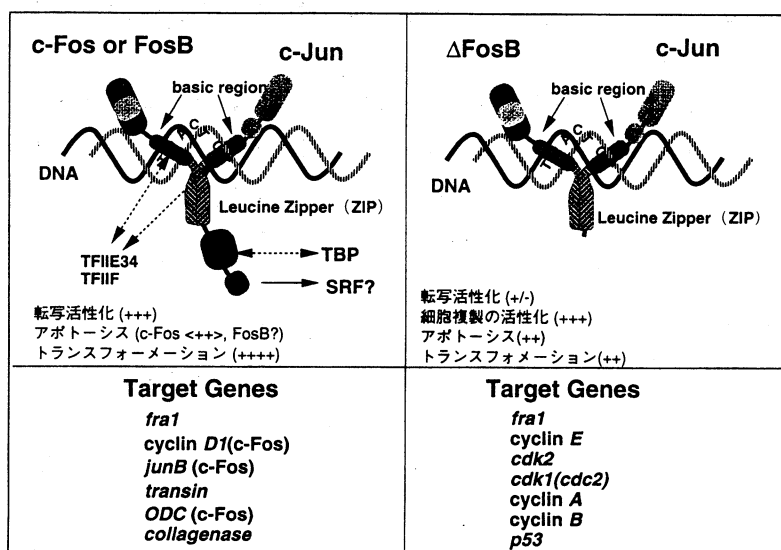


図3. Fosファミリー蛋白質とその生物学的機能

b. fosB遺伝子の脳・神経系での発現と機能

我々は、核内転写因子 Jun, Fos の生理的機能を明らかにするために、マウスやラット個体レベルでの発現とその機能について解析を進めている。6-ハイドロキシドーパミンや MPTP は線条体の黒質緻密層に存在するドーパミン産生神経に特異的に取り込まれミトコンドリアの酸化障害を引き起こすことによりドーパミン産生神経細胞死を引き起こす。このような黒質緻密層の神経細胞死はパーキンソン病で見られるものと酷似しており、6-ハイドロキシドーパミンや MPTP によって引き起こされる神経細胞死、そしてその後の神経機能傷害はパーキンソン病のモデルとして考えられている。我々は、FosB と ΔFosB 蛋白質特異的な抗体を用いた神経組織の免疫染色とイムノブロッティングより6-ハイドロキシドーパミン投与ラットの線条体-黒質ニューロンの中で D2ドーパミンレセプターを持つニューロンに Fos ファミリー蛋白質の中で ΔFosB 蛋白質のみが選択的に長期発現することを発見した。MPTP の投与で生じるサルのパーキンソン病モデルでも同様に ΔFosB の長期発現亢進が見られた。一方、このようなラットに同じく線条体-黒質ニューロンの中でドーパミンで興奮性に制御されている D1ドーパミンレセプターを持つ神経細胞に D1アゴニストを長期投与すると、運動機能の異常（旋回運動）を引き起こす。この時最初に L-ドーパなどの D1と D2の両レセプターに作用するアゴニストを投与しておくとその効果が増強されるが、この際も ΔFosB の発現亢進が見られた。

C. アルキル化剤による突然変異と細胞死の制御機構

生化学部門では、関口睦夫前教授の在任中から突然変異と発癌の関係を明らかにすることを

目指して、アルキル化剤による突然変異誘発の主たる損傷である O⁶-メチルグアニンとその修復酵素 O⁶-メチルグアニン DNA メチルトランスフェラーゼに注目して研究を進めてきた。以下に述べる研究は、福岡歯科大学生物化学教室（関口睦夫教授）との共同研究である。

a. *MGMT* 遺伝子とアルキル化剤感受性（作見，白石，續）

G : C → A : T トランジション突然変異の原因となる O⁶-メチルグアニンは O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼによって DNA 中から除去される。この酵素をコードする遺伝子 (*MGMT*) を欠失させたマウスは、

①野生型マウスと比べて1/10量の MNU（メチルニトロソウレア）の投与で死亡する。

②より低濃度の MNU 投与では胸腺腫等の腫瘍が発生する。（同じ条件で野生型マウスマウスには胸腺腫は生じない）。

この結果は DNA 中の O⁶-メチルグアニンが腫瘍発生の原因となるのみならず個体死の原因にもなること、*MGMT* 遺伝子は個体レベルでアルキル化剤に対する感受性をコントロールしていることを示している。

MGMT 欠損マウスは生存、繁殖能力とも野生型マウスと区別がつかないことから、ヒト集団中には *MGMT* 遺伝子を欠損する、あるいはその発現がなんらかの理由で低下している個体が存在する可能性が高い。ヒトにおいては抗癌剤をはじめとする医療用の薬剤としてアルキル化剤を投与されるケースを想定する必要がある。この場合 *MGMT* 欠損は重篤な結果をひき起こす可能性が示唆される。そこで *MGMT* 欠損マウスに実際に臨床で使われているダカルバジン、ACNU 等のアルキル化抗癌剤を投与し、その影響を野生型マウスと比較した。ダカルバジンを腹腔内投与し LD₅₀ で比較した場合、*MGMT* 欠損マウスは野生型マウスに比べて1/20以下の用量で同程度の感受性を示した。この *MGMT* 欠損マウスを用いたシステムでアルキル化抗癌剤による感受性試験や発癌実験を行うことにより、抗癌剤の（副）作用機序を分子レベルで明らかにできると考えている。さらに、我々の作製した *MGMT* 遺伝子欠損マウスは、アルキル化抗癌剤によって起こる骨髄抑制や二次発癌の良いモデルマウスとなる。

b. アルキル化剤感受性および腫瘍形成に関与する 2 つの DNA 修復系（河手，伊東，作見，續）

アルキル化剤により DNA 中に生じる損傷の中で、O⁶-メチルグアニンは突然変異，発がん，細胞死などの生物学的効果の出現に重要な役割を果たしている。すなわちこの損傷塩基の特異的修復酵素である O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼ (*MGMT*) を欠損したマウスは、アルキル化剤に対して高感受性を示し、少量投与では野生型マウスに比べて高い腫瘍形成率が認められた。近年 O⁶-メチルグアニンとチミンの誤塩基対がミスマッチ修復系によって認識されることが示された。我々は *MGMT* 欠損マウスで認められたアルキル化剤の効果に

ミスマッチ修復系がどのように関与しているかを検討するために、*MGMT* 遺伝子欠損に加えてミスマッチ修復系の遺伝子の1つである*MLH1*に変異をもつ*MGMT-MLH1*二重欠損マウスを作製し、アルキル化剤に対する感受性および腫瘍形成能を調べている。

業 績 目 録

原著論文

1. Cai, J-P., Kawate, H., Ihara, K., Yakushiji, H., Nakabeppu, Y., Tsuzuki, T. and Sekiguchi, M. (1997).
Significance of the conserved amino acid sequence for human MTH1 protien with antimutator activity.
Nucleic Acid Res. 25 (6), 1170-1176.
2. Goto, H., Motomura, S., Wilson, A. C., Freiman, R. N., Nakabeppu, Y., Fukushima, K., Fujishima, M., Herr, W. and Nishimoto, T. (1997).
A single-point mutation in HCF causes temperature-sensitive cell-cycle arrest and disrupts VP16 function.
Genes & Develop. 11, 726-737.
3. Oda, H., Nakabeppu, Y., Furuichi, M. and Sekiguchi, M. (1997).
Regulation of Expression of the Human *MTH1* Gene Encoding 8-Oxo-dGTPase : Alternative Splicing of Transcription Products.
J. Biol. Chem. 272 (28), 17843-17850.
4. Yakushiji, H., Maraboeuf, F., Takahashi, M., Deng, Z.-S., Kawabata, S., Nakabeppu, Y. and Sekiguchi, M. (1997).
Biochemical and physicochemical characterization of normal and variant forms of human MTH1 protein with antimutagenic activity.
Mutation Res. 384 (3), 181-194.
5. Chen, J., Kelz, M. B., Hope, B. T., Nakabeppu, Y. and Nestler, E. J. (1997).
Chronic Fos-Related Antigens: Stable Variants of Δ FosB Induced in Brain by Chronic Treatments.
J. Neuroscience 17 (13), 4933-4941.
6. Hollen, K. M., Nakabeppu, Y. and Davies, S. W. (1997).
Changes in expression of Δ FosB and the Fos family proteins following NMDA

- receptor activation in the rat striatum.
Mol. Brain Res. 47, 31-43.
7. Porter, D. W., Yakushiji, H., Nakabeppu, Y., Sekiguchi, M., Fivash, Jr., M. J., Bessman, M. J. and Kasprzak, K. S. (1997).
Sensitivity of *Escherichia coli* (MutT) and human (MTH1) 8-oxo-dGTPases to *in vitro* inhibition by carcinogenic metals, nickel (II), copper (II), cobalt (II) and cadmium (II).
Carcinogenesis 18 (9), 1785-1791.
 8. Iwakuma, T., Sakumi, K., Nakatsuru, Y., Kawate, H., Igarashi, H., Shiraishi, A., Tsuzuki, T., Ishikawa, T. and Sekiguchi, M. (1997).
High incidence of nitrosamine-induced tumorigenesis in mice lacking DNA repair methyltransferase.
Carcinogenesis 18, 1631-1635.
 9. Sakumi, K., Shiraishi, A., Shimizu, S., Tsuzuki, T., Ishikawa, T. and Sekiguchi, M. (1997).
Methylnitrosourea-induced tumorigenesis in *MGMT* gene-knockout mice.
Cancer Res. 57, 2415-2418.
 10. Suehara, N., Mizumoto, K., Tanaka, M., Niiyama, H., Yokohata, K., Tominaga, Y., Shimura, H., Muta, T. and Hamasaki, N. (1997).
Telomerase activity in pancreatic juice discriminates ductal carcinoma from adenoma and pancreatitis Clin.
Cancer Res. 3, 2479-2483.
 11. Suehara, N., Mizumoto, K., Muta, T., Tominaga, Y., Shimura, H., Kitajima, S., Hamasaki, N., Tsuneyoshi, M. and Tanaka, M. (1997).
Telomerase elevation in pancreatic ductal carcinoma compared to non-malignant pathologic states Clin.
Cancer Res. 3, 993-998.
 12. Tominaga, Y., Tsuzuki, T., Shiraishi, A., Kawate, H. and Sekiguchi, M. (1997).
Alkylation-induced apoptosis of embryonic stem cells in which the gene for DNA repair methyltransferase had been disrupted by gene targeting.
Carcinogenesis 18, 889-896.
 13. Terashima, I., Kawate, H., Sakumi, K., Sekiguchi, M. and Kohda, K. (1997).
Substrate specificity of human O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase for O⁶-benzylguanine derivatives in oligodeoxynucleotides.

Chemical Research in Toxicology, 10, 1234-1239.

総 説

1. Sekiguchi, M. and Sakumi, K. 1997.
Roles of DNA-repair methyltransferase in mutagenesis and carcinogenesis.
Jpn. J. Human Genet., 42, 389-399.

著 書

1. シリーズ分子生物学2「遺伝子工学」(関口睦夫編), 朝倉書店, 1997.
分担執筆 中別府雄作: 第2章 遺伝子工学の基本技術
分担執筆 續 輝久: 第7章 哺乳動物の胚操作
2. PCR Tips (監修/真木寿治), 秀潤社, 1997.
分担執筆 中別府雄作: 1-3: RT-PCR, 1-5: SLIC-PCR, 2-1: PCR-SSCP
3. 病理と臨床: 病理学キーワード'97, 文光堂, 1997.
分担執筆 中別府雄作: 核内転写制御因子
4. 転写のメカニズムと疾患 (編集/田村隆明・村松正實), 羊土社, 1997.
分担執筆 中別府雄作: 転写因子としてとらえる癌遺伝子・癌抑制遺伝子
5. 分子細胞生物学辞典 (村松正実・岩淵雅樹・清水孝雄・谷口維紹・広川信隆・御子柴克彦・矢原一郎 編集), 東京化学同人, 1997.
分担執筆 中別府雄作: 複数項目
6. 「分子医学で病気を識るシリーズ1: がん」, pp89-117, メジカルビュー社, 1997.
分担執筆 作見邦彦, 関口睦夫: 突然変異とゲノムの安定性

学会発表

シンポジウム

1. Tsuzuki, T., Iwakuma, T., Sakumi, K., Nakatsuru, Y., Kawate, H., Igarashi, H., Shiraishi, A., Tominaga, Y., Ishikawa, T. and Sekiguchi, M. (1997, Feb. 2-7).
Tumorigenesis in *MGMT* deficient mice.
Gordon Research Conferences, Mammalian DNA Repair (California).
2. Sekiguchi, M., Sakumi, K., Iwakuma, T., Tominaga, Y., Shiraishi, A., Tsuzuki, T. and Ishikawa, T. (1997, 9/4-9/6).
Alkylation-induced carcinogenesis in DNA repair gene-targeted mice.
6th Japanese-German Workshop on "Molecular and cellular aspects of carcinogenesis" (Essen, Germany).

3. Sakumi, K., Shiraishi, A., Shimizu, S., Tsuzuki, T., Ishikawa, T. and Sekiguchi, M.
(1997, 9/9-9/12).
Methylnitrosourea-induced Tumorigenesis in *MGMT* Gene-knockout Mice.
Second Joint Conference of the American Association of Cancer Research and the
European Association of Cancer Research (Oxford, England).
4. 續 輝久 (1997, 9/23-9/25).
MTH1遺伝子欠損 マウスの樹立と発癌の解析.
第70回日本生化学会年会, 金沢.
5. 中別府雄作 (1997, 10/13-10/16).
自然突然変異を制御する *MTH1* 遺伝子の発現とその機能.
1st 3R (Replication, Recombination and Repair) Symposium, 三木.
6. 早川浩, F. Taddei, 薬師寺浩之, 中別府雄作, 北嶋繁考, 祭 勇, 大城 聡, A. Hofer,
L. Thelander, M. Radman, 関口睦夫 (1998, 2/5-2/7).
MutT 蛋白及びそのヒトホモログ MTH1は転写の忠実度を制御する.
Workshop on DNA Repair and Mutagenesis'98, 仙台.
7. 中別府雄作, 藤井喜充, 蔡 劍平, 薬師寺浩之, 下川英俊, 関口睦夫 (1998, 2/5-2/7).
部位特異的のアミノ酸置換法によるヒト MTH1変異蛋白質の解析.
Workshop on DNA Repair and Mutagenesis'98, 仙台.
8. 續 輝久, 河手久弥, 作見邦彦, 伊東理世子, 野田哲生, 中鶴陽子, 石川隆俊, 関口睦夫,
中別府雄作 (1998, 2/5-2/7).
アルキル化剤感受性および腫瘍形成に関する 2 つの DNA 修復酵素系.
Workshop on DNA Repair and Mutagenesis'98, 仙台.

一般講演

1. 井上 亮, 阿部眞佐子, 中別府雄作, 関口睦夫, 鈴木友和 (1997, 9/23-9/25).
ヒト O⁶-メチルグアニン-DNA メチルトランスフェラーゼの変異タンパク質の性質につい
て. 第2報.
第70回日本生化学会年会, 金沢.
2. 河手久弥, 作見邦彦, 續 輝久, 野田哲生, 関口睦夫 (1997, 9/25-9/27).
アルキル化剤感受性および腫瘍形成にメチルトランスフェラーゼとミスマッチ修復系の関
与.
第56回日本癌学会総会, 京都.
3. 白石明子, 作見邦彦, 関口睦夫 (1997, 9/25-9/27).
アルキル化抗癌剤に対する感受性を支配する遺伝子 *MGMT*.

第56回日本癌学会総会，京都。

4. 清水靖仁，薬師寺浩之，中別府雄作，関口睦夫，小田秀明，石川隆俊（1997，9/25-9/27）.
ヒト肝芽腫における *hMTH1* 遺伝子の変異についての検討。

第56回日本癌学会総会，京都。

5. 中別府雄作，小田尚伸，鈴木友和，関口睦夫（1997，11/1-11/3）.

自然突然変異をコントロールするヒト MTH1 蛋白質の多型。

日本遺伝学会第69回大会，横浜。

6. 大坪俊夫，松田 修，寺島 勇，射場 厚，関口睦夫，中別府雄作（1997，12/16-12/19）.

シロイヌナズナ *mutM* ホモログ遺伝子のクローニングと機能解析。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

7. 藤井喜充，蔡 劍平，續 輝久，中別府雄作，関口睦夫（1997，12/16-12/19）.

部位特異的アミノ酸置換法を用いたヒト MTH1 蛋白質機能ドメインの解析。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

8. 小田尚伸，中別府雄作，古市正人，関口睦夫（1997，12/16-12/19）.

8-Oxo-dGTPase をコードするヒト *MTH1* 遺伝子の発現制御。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

9. 秋友由子，神田大輔，廣明秀一，中別府雄作，森川耿右（1997，12/16-12/19）.

大腸菌 Ada 蛋白質 N 端 16 kDa 部分のドメイン構造と DNA 認識。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

10. 古倉健嗣，熊谷洋一，岸本利彦，吉田光昭，中別府雄作，村松正実，牧野泰孝，田村隆明
（1997，12/16-12/19）.

肝癌で発現量が上昇する転写因子 HTF は，c-Fos と協調的に SV40 プロモーターを活性化
する。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

11. 作見邦彦，白石明子，関口睦夫（1997，12/16-12/19）.

MGMT 遺伝子欠損マウスに対するアルキル化抗癌剤の致死効果。

第20回日本分子生物学会年会，京都。

12. 續 輝久，五十嵐久人，富永洋平，岩熊智雄，中鶴陽子，清水誠一郎，石川隆俊，関口睦
夫（1997，12/16-12/19）.

MTH1 遺伝子欠損マウスの樹立と自然発癌。

第20回日本分子生物学会年会，京都。