



TITLE:

Genome-wide profiling of 8-oxoguanine reveals its association with spatial positioning in nucleus(Digest_要約)

AUTHOR(S):

Yoshihara, Minako

CITATION:

Yoshihara, Minako. Genome-wide profiling of 8-oxoguanine reveals its association with spatial positioning in nucleus. 京都大学, 2014, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2014-09-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18546>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

論文題目 Genome-wide profiling of 8-oxoguanine reveals its association with spatial positioning in nucleus

(8-オキソグアニンのゲノムワイドなプロファイリングによるその核内空間配置との関連の解明)

哺乳類ではDNAの酸化的損傷が100種類以上知られている。中でも8-oxoguanine (8-oxoG)は最も多く生成し、通常状態では 10^5 - 10^6 グアニンに1つ、つまり細胞1個あたり数千の8-oxoGが存在している。8-oxoGは2つの経路で生成される。1つはグアニンの直接酸化であり、もう1つはヌクレオチドプールで生成した8-oxo-dGTPが複製時に取り込まれることによるものである。8-oxoGの存在下でDNA複製が行われるとシトシンの代わりにアデニンが挿入されることがあり、結果としてG>T transversionが発生する。酸化ストレスが病因に関連すると考えられる肺癌、乳癌、卵巣癌、胃癌、大腸癌等で、腫瘍組織の体細胞突然変異にはG>Tが高頻度に認められるため、8-oxoGの関連変異であることが示唆される(参考文献1)。また、神経変性疾患や加齢に伴う障害においても8-oxoGの多量蓄積との関連が報告されている(参考文献2)。このように多岐に渡る疾患に関連が想定される8-oxoGであるが、これまでの報告は定量のみであり詳細なゲノム全体の8-oxoGの分布を示した報告はない(参考文献3,4)。今回、8-oxoGを特異的に認識する抗体(N45.1)を用いた免疫沈降とラットゲノム全体をカバーするマイクロアレイを使用して、ラットの正常腎皮質組織におけるゲノム全体での8-oxoGの分布を検討した。

全体に数Mb以上の8-oxoGが豊富な領域が連なり、幅広いpeakを示す傾向が見られた。これらの数Mbの領域を観察すると8-oxoGはgene desertで多く、gene-rich領域では相対的に少ないことがわかった。1Mb幅の平均8-oxoG量と同領域内の遺伝子数に関して負の相関($r = -0.47$, $p < 0.001$)を認めた。次に、遺伝子発現と8-oxoG量との関連を調べるためにマイクロアレイによる遺伝子発現の結果を高発現領域と低発現領域の2群に分け、8-oxoGの分布と比較したが遺伝子発現強度間での明らかな違いは見出せなかった。そこで、gene desertとgene-rich領域がゲノムの空間的配置と関係することに注目し、chromosome territory (CT)に関連した解析を行った(参考文献5)。CTでは一般にgene-richな領域は核の内側にgene-poorな領域は核の外側に配置するとされる。核膜の裏打ちタンパク質であるlaminに隣接するlamina-associated domains (LADs)は、AT-richな抑制性の染色体ドメインでgene-poorな領域である(参考文献6,7)。8-oxoGとLADsについて検討すると強い相関($p < 2.2 \times 10^{-16}$)を認めた。これは8-oxoGが単純にGC含量のみに依存するのではなく、ゲノムDNAの核内空間的配置が酸化修飾の存在頻度を規定していることを示唆する。その機構として、1つは核周縁に存在するLADsは核外からの酸化ストレスを受けやすいこと、2つ目はLADsで8-oxoGの修復が行われないことが想定される。後者については少なくとも2つの可能性が考えられる。すなわち、LADsではゲノム構造がコンパクトで修復酵素がアクセスしにくいこと、または損傷塩基の近傍に2つ以上の損傷が存在することで修復が起こりにくくなるクラスターダメージが想定される為である。

核周縁のヘテロクロマチンが、中央に位置するユークロマチンを変異原から保護しているという **bodyguard hypothesis** が以前より提唱されてきたが(参考文献 8)、これを具体的に示した報告は今までなかった。グアニンは 4 種の塩基の中で最も酸化されやすい。今回の 8-oxoG が核周縁により豊富に分布するという新知見はこの **bodyguard hypothesis** をサポートする初めての報告である。

参考文献一覧

1. Greenman, C., Stephens, P., Smith, R., et al. 2007, Patterns of somatic mutation in human cancer genomes. *Nature*, **446**, 153-158.
2. Iida, T., Furuta, A., Nishioka, K., Nakabeppu, Y. and Iwaki, T. 2002, Expression of 8-oxoguanine DNA glycosylase is reduced and associated with neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease brain. *Acta Neuropathol.*, **103**, 20-25.
3. Ohno, M., Miura, T., Furuichi, M., et al. 2006, A genome-wide distribution of 8-oxoguanine correlates with the preferred regions for recombination and single nucleotide polymorphism in the human genome. *Genome Res.*, **16**, 567-575.
4. Akatsuka, S., Aung, T. T., Dutta, K. K., et al. 2006, Contrasting genome-wide distribution of 8-hydroxyguanine and acrolein-modified adenine during oxidative stress-induced renal carcinogenesis. *Am. J. Pathol.*, **169**, 1328-1342.
5. Cremer, T. and Cremer, M. 2010, Chromosome territories. *Cold Spring Harb. Perspect Biol.*, **2**, a003889.
6. Peric-Hupkes, D., Meuleman, W., Pagie, L., et al. 2010, Molecular maps of the reorganization of genome-nuclear lamina interactions during differentiation. *Mol. Cell*, **38**, 603-613.
7. Meuleman, W., Peric-Hupkes, D., Kind, J., et al. 2013, Constitutive nuclear lamina-genome interactions are highly conserved and associated with A/T-rich sequence. *Genome Res.*, **23**, 270-280.
8. Hsu, T. C. 1975, A possible function of constitutive heterochromatin: the bodyguard hypothesis. *Genetics*, **79 Suppl**, 137-150.