

〈8〉 家族性乳癌原因遺伝子BRCA1の癌抑制機構の解析と変異遺伝子の機能診断法の確立

千葉 奈津子

東北大学医学部附属病院腫瘍内科

家族性乳癌原因遺伝子BRCA1は、癌抑制遺伝子で、体細胞変異が認められた場合、若年発症乳癌、両側乳癌、多臓器重複癌の頻度が高い。よって、本遺伝子変異診断は、癌の早期発見、治療に重要である。しかし、従来の遺伝子診断法では、時間とコストに制限があり、ミスセンス変異の場合SNPとの鑑別が困難である。したがって、本遺伝子の機能評価により、遺伝子異常と判定する方法の開発が急務である。本研究では、BRCA1の機能を解析し、BRCA1の機能診断法の確立をめざした。

我々は野生型といくつかの欠失変異体のBRCA1発現アデノウイルスベクターを作製し、乳腺上皮細胞株MCF10Aに感染させ、増殖抑制効果を検討した。興味深いことに、N末端欠失変異体のみが強い増殖抑制を示した。また、N末端欠失変異体にさらに欠失領域を作製すると、中間部に欠失領域がその増殖抑制効果を消失させることが分かった。

BRCA1のN末端はBARD1と二量体を形成し、ユビキチンポリメラーゼ活性を示し、腫瘍由来のBRCA1のN末端のミスセンス変異体はこの活性がなく、BRCA1は細胞周期のS期にBARD1とともに核内fociを形成することが知られている。そこで、我々はN末端で既に報告された点突然変異をもつ27種類のBRCA1発現ベクターを作製した。まず、BARD1との相互作用を免疫沈降法で検討したところ、RINGドメインの亜鉛結合残基のミスセンス変異体は結合能がなく、亜鉛結合部位以外のRINGドメイン内のミスセンス変異では、結合能のあるものとなないものがあつた。また、RINGドメイン以外のミスセンス変異では結合能に変化がなかった。さらに、ユビキチンポリメラーゼ活性とS期の核内fociの形成能を検討したところ、BARD1の結合能の結果と一致した。

以上より、BRCA1のN末端の重要性が示された。今後は、この機能解析に用いた手法を利用して、BRCA1の機能診断法として、臨床応用に発展させていく予定である。

参考文献

1. Fanglei You, Natsuko Chiba, et al. Expression of an amino-terminal BRCA1 deletion mutant causes a dominant growth inhibition in MCF10A cells. *Oncogene* (in press)