

## 熊本大学学術リポジトリ

### Kumamoto University Repository System

Title	Differential Roles of Rad18 and Chk2 in Genome Maintenance and Skin Carcinogenesis Following UV Expo...
Author(s)	田上, 友貴
Citation	
Issue date	2018-03-25
Type	Thesis or Dissertation
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2298/42243">http://hdl.handle.net/2298/42243</a>
Right	

# 学位論文抄録

Differential Roles of Rad18 and Chk2 in Genome Maintenance and Skin Carcinogenesis  
Following UV Exposure  
(紫外線暴露後のゲノム維持と皮膚発がんにおける Rad18 と Chk2 の異なる役割)

田上友貴

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻損傷修復学

指導教員

立石 智 講師

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻損傷修復学

## Abstract of the Thesis

**Background and Purpose:** *Xeroderma pigmentosum* variant (XP-V) is an inherited disease, and characterized by increased incidence of skin carcinogenesis at sun-exposed skin areas. The gene responsible for XP-V encodes the DNA polymerase eta (Pol $\eta$ ). Pol $\eta$  is controlled by ubiquitin ligase Rad18. However, it is unknown whether the Rad18-deficiency also predisposes pathology of XP-V. Human individuals harboring heterozygous for nonfunctional *CHEK2\*1100delC* that is a SNP of the human *CHEK2* gene (orthologue of mouse *Chk2*), has a 2-fold increased risk of mammalian tumor and malignant melanoma. However, it is unknown whether UV exposure is a risk factor for skin carcinogenesis in humans with dysfunctional *CHEK2*. This study, we will define the roles of Rad18 and Chk2 in suppressing UV-inducible skin carcinogenesis.

**Methods:** We chronically exposed shaved dorsal skin of *WT*, *Rad18*<sup>-/-</sup>, *Chk2*<sup>-/-</sup> and *Chk2*<sup>-/-</sup>*Rad18*<sup>-/-</sup> mice to UV-B light and observe skin tumorigenesis. We established ES cells and MEFs from each genotypes of mice and evaluated cell survival, cell cycle control, cell death, and frequency of micronucleus formation (an indicator for genomic instability).

**Results:** The skin cancer formation rate of *Rad18*-deficient mice was not statistically different from that of *WT* mice. *Chk2*-deficient mice developed skin cancers with less dose of UV-B than those of *WT* mice. UV-irradiated *Rad18*-deficient ES cells and MEFs were more susceptible to cell cycle arrest at G1/S phase and apoptosis than those of *WT* cultures. *Chk2*-deficiency alleviated those phenotypes of both cells, but resulted in increased genomic instability.

**Conclusions:** It is unlikely that the disfunction of Rad18 leads to pathology of XP-V. The tumor-suppressive role of Pol $\eta$  in UV-treated skin is Rad18-independent. We also define a role for Chk2 in suppressing UV-induced skin carcinogenesis *in vivo*. This study identifies *Chk2* dysfunction as a potential risk factor for sunlight-induced skin tumorigenesis in humans.

## 学位論文抄録

[ 目的 ] 色素性乾皮症バリエーション(XP-V)は遺伝病であり、紫外線(UV)照射により皮膚がんを多発する。XP-V の責任遺伝子は複製酵素  $\eta$  をコードしており、複製酵素  $\eta$  はユビキチンリガーゼである Rad18 により制御されているため、Rad18 の機能不全も UV 照射により皮膚がんを多発する可能性がある。Rad18 の機能欠損も XP-V の原因であるか検討する。また、*Rad18* 欠損マウス細胞を UV 照射すると、Chk2 が顕著に活性化する。マウス *Chk2* の相同体であるヒト *CHEK2* の機能不全変異をヘテロでもつヒトは、乳がんおよび悪性黒色腫の発症リスクが約 2 倍高くなる。*Chk2* 欠損マウスに UV を照射すると皮膚がんを多発するか調べる。本研究では、Rad18 または Chk2 の機能欠損による発がんメカニズムを調べることを目的とした。

[ 方法 ] *Rad18* や *Chk2* を単独または二重欠損させたマウスに、UV-B を定期的に照射して皮膚がんの形成率を測定した。Rad18 または Chk2 の機能欠損による発がんメカニズムを解明するため、各マウスより樹立した胚性幹(ES)細胞とマウス胎児線維芽細胞(MEF)を用いて、UV-B、UV-C 照射後の細胞の生存率、細胞周期制御、細胞死、微小核の形成頻度(ゲノム不安定性の指標)について試験した。

[ 結果 ] *Rad18* 欠損マウスでは、野生型(WT)マウスに比べて UV 照射後の皮膚がん形成率に差が見られなかった。*Chk2* 欠損および *Chk2*・*Rad18* 二重欠損マウスはいずれも、WT マウスと比較して UV-B 誘発性の皮膚がん形成を起こしやすいことが示された。*Rad18* 欠損細胞に UV を照射すると WT 細胞と比較して G1/S 期での停止の程度およびアポトーシスが増加した。これに対して *Chk2* を欠損した細胞では G1/S 期での停止およびアポトーシスが抑制されており、微小核の形成頻度が高かった。

[ 考察 ] *Rad18* 欠損マウスは WT マウスに比べて同程度の皮膚がん形成率であったため、Rad18 の機能欠損が XP-V の原因である可能性は低い。細胞への UV 照射により活性化した Chk2 は、細胞周期を停止することで損傷した DNA 鎖を修復するための時間を確保し、それとともにアポトーシスを導くことで著しく傷害された DNA を持つ細胞を排除し、ゲノム DNA の正常性を保つ。この機構により Chk2 は UV 照射による皮膚がんの発症を防いでいると考えられる。

[ 結論 ] UV 照射により活性化した Chk2 は、細胞周期を制御しアポトーシスを導くことでゲノム DNA の正常性を保つ。Chk2 の機能不全が、紫外線誘発性の皮膚がん形成のリスク要因であることが明らかになった。