

主任研究者 国立がんセンター 中 釜 斉

## 研究成果の要旨

G-rich な(GGGCA)反復配列が大腸菌内で複製阻害を起こすことと、*sacB(+)*の *miniF* プラスミドに (GGGCA)反復配列を挿入したプラスミド *pFS* を野生型大腸菌および *recA* 破壊株に導入したところ、反復配列を含まない *pFS* に比較して 2-3 倍の頻度でプラスミドの脱落を示した。神経芽腫での MYCN の高発現状態は  $\gamma$  線等の DNA 損傷下において中心体複製と DNA 複製のカップリングの障害を生じ、中心体数の異常複製を起こすことが分かった。Aurora-A の過剰発現によるがん化の誘導には、p53 変異などの分裂期チェックポイント機能の障害によるアポトーシス誘導の解除が必要であること、がんにおいて Aurora-A の働きを阻害することで正常細胞よりもはるかに高い感受性で細胞死や細胞分化を誘導できる可能性が示唆された。DNA 修復関連の遺伝子群では、二本鎖切断修復の“場”の形成において NBS1 が重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、損傷乗越え修復に関わる REV1L 遺伝子のアミノ酸置換を伴う多型が肺扁平上皮がんの易罹患性と相関することが示唆された。酵母を用いた解析では、rDNA 領域での転写強度が、変異原による DNA 損傷の細胞致死性に大きな影響を与えることを発見した。抗がん剤などの細胞毒性の機序を理解する上で重要な知見と考える。

## 研究者名および所属施設

| 研究者名    | 所属施設および職名          | 分担研究課題                                 |
|---------|--------------------|----------------------------------------|
| 中 釜 斉   | 国立がんセンター研究所 部長     | 反復配列を介した染色体不安定化機構、及び Parp-1 欠失と染色体多倍体化 |
| 三 輪 正 直 | 筑波大学基礎医学系生化学 教授    | 発がんにおける染色体動態、細胞周期異常の研究                 |
| 三 森 龍 之 | 熊本大学大学院医学薬学研究部 助手  | 分裂期キナーゼの機能異常に伴う染色体不安定化と発がんとの関連に関する研究   |
| 小 松 賢 志 | 京都大学放射線生物研究センター 教授 | NBS1 によるゲノム安定化機構                       |
| 太 田 力   | 国立がんセンター研究所 室長     | 発がんにおける DNA 修復因子に関する研究                 |
| 真 木 寿 治 | 奈良先端科学技術大学院大学 教授   | 染色体複製開始制御異常による染色体異常の誘発                 |

## 総括研究報告

## 1 研究目的

本研究の目的は、染色体の安定性維持機構のための分子機構の包括的解明を目指し、その破綻とがん化との関連を明らかにすることである。ヒトの発がん過程において、染色体の多倍体化や異数化、転座や欠失・増幅、

染色体分配異常などのゲノム不安定化が高頻度に出現し、がん発生の早期段階から重要な役割を果たしていると考えられている。染色体の安定性維持には、DNA 複製の制御機構、組み換え修復機構、細胞分裂の際の種々のチェックポイント機構が複雑に絡んでいる。特に、DNA 損傷のチェックポイント機構による染色体安定化機構の解明は、内在性及び外的環境要因による DNA 損傷がもたら

す複製フォークの進行阻害による染色体不安定化と、そのがん化における意義を解明する上で極めて重要と考えている。将来的には、染色体不安定化に関わる分子種の構造および機能異常を高感度に検出するための診断法を開発し、がんの早期診断或いは予防への応用やがんの薬物治療におけるあらたな分子標的としての可能性についても追究していく。

## 2 研究成果

(1) (GGGCA)反復配列を有するプラスミドDNAの大腸菌内及び *in vitro* 哺乳動物 DNA 複製系での複製阻害

(GGGCA)配列の 8 回或いは 12 回の繰返し配列を leading 鎖及び lagging 鎖に有するプラスミド pYA4/6 (leading 鎖), pYA5/7 (lagging 鎖) を作成し大腸菌に導入した。増殖期の大腸菌からプラスミドを回収し、2 次元のアガロースゲル電気泳動で解析したところ、反復配列をもつプラスミドでは、leading 鎖或いは lagging 鎖の何れの場合においても、ほぼ同程度に複製フォークの停止像が認められた。反復の回数による有意な違いは検出されなかった。(GGGCA)反復配列が形成する G4 構造を解除する hnRNPA1 蛋白質の発現誘導ベクターを導入したところ、十分量の hnRNPA1 蛋白質を発現できたにもかかわらず、(GGGCA)リピート配列における複製フォーク停止の解消は認められなかった。次に、哺乳動物細胞の DNA 複製系として、SV40-ori プラスミドの DNA 複製に及ぼす (GGGCA)反復配列の影響について 2 次元電気泳動で検討した。8 回及び 12 回の反復配列を leading 鎖および lagging 鎖に有する何れの場合においても、明らかな複製フォークの停止を示すスポットは観察されなかった。正常の哺乳動物細胞においては、G4 構造などの DNA 高次構造の存在による DNA 複製阻害を解消する仕組みが存在することが示唆された。

(2) (GGGCA)反復配列の大腸菌内における複製阻害の定量的評価

sacB(+)の miniF プラスミド (pFS)に (GGGCA)の 8 回ないし 12 回の繰返し配列を挿入したプラスミドを大腸菌野生株、および recA 破壊株に導入し、蔗糖添加培地でのプラスミドの脱落の割合 (loss rate; LR) を測定した。野生株においては、8 回および 12 回繰返し配列を有するプラスミドの LR は 0.42 ~ 0.44 % となり、(GGGCA)<sub>8-12</sub> のリピート配列を有しない場合 (対照群) に比べて 1.82 ~ 1.92 倍に上昇することが分かった。8 回繰返し (40mer) と 12 回繰返し (60mer) 間では LR に有意な差は認めなかった。ランダムな 40mer または 60mer を導入し

た pFS プラスミドの LR は対照群と有意な差を認めなかった。以上の結果から、(GGGCA) のリピート配列が挿入されたことにより、pFS プラスミドの LR が上昇したものと結論された。複製後の相同組換え修復に必須な遺伝子である recA 遺伝子の破壊株を用いた場合では、8 回及び 12 回の反復配列を有する場合の LR はそれぞれ 0.52 及び 0.76% と対照群の 2.16 倍及び 3.14 倍に上昇した。さらに、recA 破壊株では (GGGCA) のリピート配列の長さにより LR に差が見られることが分かった。

(3) hnRNPA3 のテロメア配列 (GGGTTA)<sub>n</sub> への結合

一本鎖 (GGGCA) 配列に結合する蛋白質として、UP1/hnRNPA1 とともに同定された hnRNPA3 の結合配列の特異性について検討した。hnRNPA3 は、(GGGCA) 配列よりも (GGGTTA) の反復配列であるテロメア配列に対しより特異的に結合することが分かった。さらに、(GGGTTA) 配列を有する template DNA の複製が、*in vitro* において hnRNPA3 の量依存的に強く阻害されることが分かった。

(4) 神経芽腫細胞での MYCN 発現亢進と中心体複製過剰

MYCN 蛋白質を発現せず中心体の数の正常な神経芽腫由来の SH-EP 細胞株に、レトロウイルスベクター (pGCDNsamIRES-EGFP) を用いて、MYCN を導入した細胞株 (MYCN-EGFP 細胞) と空ベクターを導入した細胞株 (vector-EGFP 細胞) を樹立した。これらの細胞株を用いて、中心体のマーカーである  $\gamma$ -tubulin の免疫染色を用いて中心体数を計測した。何れの細胞株においても中心体数の増加は見られず、MYCN 蛋白質の発現単独では中心体数の増加は見られないことが分かった。次に、10 グレイの  $\gamma$  線照射 24 時間後の中心体数を計測したところ、MYCN-EGFP 細胞では照射後 72 時間で 36 個の分裂細胞のうち 14 個 (39%) で異常な多極分裂を示す細胞が見られた。一方、vector-EGFP 細胞では 32 個の分裂細胞のうち 3 個 (9%) であった。 $\gamma$  線の代わりに、DNA 障害性薬剤である aphidicolin (0.5  $\mu$ g/ml) の処理を行った場合も同様に、MYCN-EGFP 細胞では vector-EGFP 細胞に比べて中心体数の異常が多かった。MYCN の高発現状態で DNA 障害を伴った場合に、細胞分裂時の中心体複製と DNA 複製とのカップリングの解除が惹起され、その結果、中心体数の異常複製を起こすことが示唆された。

(5) Aurora-A キナーゼの機能異常に伴う染色体不安定化と発がんとの関連

Aurora-A-トランスジェニックマウスの乳腺では、授乳時に Aurora-A の過剰発現、過形成性変化及び二核細胞の出現など見られたが、15 か月の観察期間において悪性腫瘍形成は確認されなかった。Aurora-A の過剰発現によ

り、p53依存的な細胞死が誘導されることが分かった。Aurora-A発現マウスとp53不活化マウスを交配したところ細胞死は有意に抑制され、一部に腫瘍性変化が観察された。これらの結果より、Aurora-Aの過剰発現により細胞質分離が障害され二核細胞が多数出現すること、これら二核細胞は分裂期後チェックポイント(postmitotic checkpoint)によってアポトーシスを誘導され排除されるためがん化に至らないこと、がん化の誘導にはp53変異など分裂期後チェックポイントの障害が必要であることが示唆された。尚、多くのがん細胞ではAurora Aが全細胞周期に渡って高く発現している。がん細胞で高発現しているAurora Aは、がん細胞が生きるために不可欠になっていることが考えられ、その働きを阻害することで正常細胞よりはるかに高い感受性で細胞死や分化を誘導できる可能性が示唆された。

#### (6) NBS1によるゲノム安定化機構

NBS1蛋白質のN末側ならびにC末側欠損細胞で、Ser-957およびSer-966のリン酸化の有意の低下が見られ、これと一致して放射線照射後のS期チェックポイント異常が出現した。放射線抵抗性NBS細胞およびAT細胞でもSMC1のSer-957およびSer-966のリン酸化の低下が見られることから、放射線照射後のS期チェックポイントはNBS1およびSMC1リン酸化経路を介して起こることが示唆された。更にこれらの変異細胞では、放射線照射後の染色体異常が高頻度に誘発されることから、チェックポイント異常がNBS細胞のゲノム不安定化の原因と考えた。

乳がんのがん抑制遺伝子であるBRCA1もNBS1とSMC1との免疫沈降体に含まれていることが判明した。さらに、NBS1抗体沈殿物にワーナー症候群の原因遺伝子WRNのコードするWRN蛋白質が見いだされた。NBS細胞ではWRN蛋白質とMRE11/RAD50蛋白質の結合が見られないことから、MRE11/RAD50はNBS1を介してWRN蛋白質と結合していることが明らかになり、DNA二本鎖切断の修復の"場"を形成する上でNBS1が重要な役割を果たしていることを明らかにした。NBS1のFHA/BRCTドメインはヒストンH2AXの結合に必須の領域であり、H2AXのリン酸化により損傷部位がラベルされ、その後にNBS1が損傷部位に集結、さらにその他のBRCA1ならびにSMC1, WRNと結合する。SMC1は姉妹染色体間の組換えを容易にし、WRNはそのヘリケース活性で相同組換えに必要な単鎖DNAを生成するモデルが示唆される。一方、NBS1とSMC1との結合はSMC1のリン酸化を引き起こして、S期チェックポイントを誘導するのに役立つと考えられる。AT細胞およびNBS細胞の特徴である放射線抵抗性DNA合成および染色体不安定性は、SMC1との結合お

よびリン酸化を介したNBS1およびATMの機能によって説明が可能となった。

#### (7) 発がんに関わるDNA修復系遺伝子の網羅的SNPs解析

説明文書・同意文書により同意を得た健常者約20人およびがん患者約100人から提供された末梢血からゲノムDNAを精製した。このDNAを用いて約150個の遺伝子のDNA修復系遺伝子の全てのエクソン領域とイントロン-エクソン境界領域の塩基配列の解読を試みた。一塩基の変異をともなった多型(SNP)を多数検出し、そのうち、アミノ酸に変化を与えるSNPsが1562か所存在した。この中から50か所のSNPsを選び出し、肺がん患者数1,000名を用いた相関解析を行ったところ、扁平上皮がん患者(約200名)の易罹患性と関連するSNPsを、3種類の遺伝子に合計4か所同定した。この内、出芽酵母のREV1遺伝子のヒトホモログであり乗越え修復に関与することが知られているREV1遺伝子は、チミンダイマー(T-T)を含め多くのDNA損傷部位において、シトシン(C)を相補鎖に導入しDNAの合成を助ける活性がある。そこで、REV1L遺伝子に見出されたアミノ酸変異をもたす蛋白質の活性を検討した。昆虫細胞を用いて大量精製した組換え体REV1L蛋白質の活性を比較したところ、肺扁平上皮がんで偏りの見られたSNP型のREV1L蛋白質は、野生型に比べて約70%の活性しかないことがわかった。DNA修復系遺伝子群は抗がん剤や放射線等の治療効果と密接に関与することが知られており、REV1L遺伝子の多型解析はがんの治療薬選択の一つの指標になることが期待される。

#### (8) rDNA領域短縮株のDNA損傷感受性

出芽酵母において、*orc2-1*変異の温度感受性はrDNAのコピー数が減少することにより顕著に抑制され、DNA損傷チェックポイント制御の誘導も抑制する。今年度は、rDNA領域が複製開始制御異常以外の、化学変異原などによるDNA損傷の感知にも関与しているかについて検討した。rDNA短縮株はアルキル化剤や紫外線に感受性を示すことが見いだされたが、損傷チェックポイント制御の発動そのものにはrDNA短縮株と野生株の間で顕著な差異は見いだされなかった。興味深いことに、rDNA短縮株においては、rDNA領域での転写を抑制した場合に、変異原に対する高感受性が強く抑制されることが分かった。野生株においても、rDNA領域での転写抑制により変異原に対する感受性が通常よりも低下した。これらの結果から、rDNA領域の転写の強度が変異原によるDNA損傷の細胞致死性に大きな影響を与えていることを明らかにした。この結果は、抗がん剤などの細胞毒性を理解する上で重要

な新しい知見である。

### 3 倫理面への配慮

本研究で行う動物実験については、各々の分担研究者が、各研究機関および大学において定められた「動物実験に関する指針」を遵守し、実験に用いる動物も統計学的検定に必要最小限の個体数を用いた。動物遺伝子からヒトの原因遺伝子に到達した場合や、ヒト腫瘍サンプルを用いる解析の実施に当たっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、指針適用範囲内に該当する研究計画については、各機関の遺伝子解析研究倫理審査委員会において研究計画に対する審査を受け、承認を得た上で実施した。個人識別情報はコンピューターの外部記憶装置に保管し、厳重に保管している。NBS患者細胞は過去に米国の細胞供給機関 Coriel Cell Repository から購入されたものであり、倫理規定は適用されないと考えられるが、可能な限り倫理指針に沿って適正に対処した。

### 4 研究成果の刊行発表

#### 外国語論文

- Ogino, H., Nakagama, H., et al. Stability of centrosome numbers in poly(ADP-ribose)polymerase-1- and poly(ADP-ribose)glycohydrolase-deficient mouse ES cells. *Proc. Jpn. Acad., Ser (B)*, 80: 290-294, 2004.
- Uchida, S., Nakagama, H., et al. Binding of 14-3-3b but not 14-3-3s controls the cytoplasmic localization of CDC25B: binding site preference of 14-3-3 subtypes and the subcellular localization of CDC25B. *J. Cell Sci.*, 117: 3011-3020, 2004.
- Uchida, S., Nakagama, H., et al. Nuclear export signal in CDC25B. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 316: 226-232, 2004.
- Tsuchiya, N., Nakagama, H., et al. LRP130, a single-stranded DNA/RNA binding protein, plays a role in the nucleo-cytoplasmic export of mRNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 317: 736-43, 2004.
- Shibata, A., Nakagama, H., et al. Efficient method for mapping and characterizing structures of deletion mutations in gpt delta mice using Southern blot analysis with oligo DNA probe. *Environ. Mol. Mutagen.*, 43: 204-207, 2004.
- Shibata A, Nakagama H, et al. *Parp-1* deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements *in vivo* after treatment with an alkylating agent. *Oncogene*. 24:1328-1337, 2005.
- Ushigome M, Nakagama H, et al. Up-regulation of the hnRNPA1 gene in human colorectal cancer. *Int J Oncol*. 26:635-640, 2005.
- Shiokawa M, Nakagama H, et al. Genetic alteration of *poly(ADP-ribose)polymerase-1* in human germ cell tumors. *Jpn J Clin Oncol*. 35:97-102, 2005.
- Masutani M, Nakagama H, et al. PolyADP-ribosylation in relation to cancer and autoimmune disease. In: *Poly(ADP-ribosyl)ation, Edited by Alexander Burkle. Cell Mol Life Sci.*, in press, 2005.
- Ogawa, K., Nakagama, H., et al. Parp-1 deficiency does not enhance liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline in mice. *Cancer Lett.*, in press, 2005.
- Sugihara, E., Miwa, M., et al. Enhanced expression of MYCN leads to centrosome hyperamplification after DNA damage in neuroblastoma cells. *Oncogene*, 23: 1005-1009, 2004.
- Miwa, M., et al. Roles of poly(ADP-ribose) metabolism in the regulation of centrosome duplication and in the maintenance of neuronal integrity. In: *Poly(ADP-Ribosyl)ation*, Buerkle, A ed., Landes Bioscience, Georgetown, TX., 2004.
- Hanai, S., Miwa, M., et al. Integration of human T-cell leukemia virus type 1 in genes of leukemia cells of patients with adult T-cell leukemia. *Cancer Sci.*, 95: 306-310, 2004.
- Hanai, S., Miwa, M., et al. Loss of poly(ADP-ribose) glycohydrolase causes progressive neurodegeneration in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 82-86, 2004.
- Thuwajit, C., Miwa, M., et al. Increased cell proliferation of mouse fibroblast NIH-3T3 *in vitro* induced by excretory/secretory product(s) from *Opisthorchis viverrini*. *Parasitology*, 129: 455-464, 2004.
- Iijima, S., Miwa, M., et al. Nuclear localization of Vpr is crucial for the efficient replication of HIV-1 in primary CD4+ T cells. *Virology*, 327: 249-261, 2004.
- Yano, Y., Miwa, M., et al. Gene expression profiling identifies platelet-derived growth factor as a diagnostic molecular marker for papillary thyroid carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 10: 2035-2043, 2004.
- Kushida, S., Miwa, M., et al. A tumor vaccine of fixed fragments in a controlled-release vehicle with cytokines for therapy of hepatoma in mice. *Digestive and Liver Disease*, 36: 478-485, 2004.
- Ghosh, M., Miwa, M., et al. Establishment and characterization of unique human gallbladder cancer cell lines. *Int. J. Oncol.*, 24: 1189-1196, 2004.
- Ghosh, M., Miwa, M., et al. Characterization and genetic analysis in the newly established human bile duct cancer cell line. *Int. J. Oncol.*, 26: 449-456, 2005.
- Honjo, S., Miwa, M., et al. Genetic and environmental determinants of risk for cholangiocarcinoma via *Opisthorchis viverrini* in a densely infested area in Nakhon Phanom, northeast Thailand. *Int. J. Cancer*, in press, 2005.
- Loilome, W., Miwa, M., et al. Fluorescence differential display analysis of gene expression in opisthorchis viverrini associated cholangiocarcinoma in hamster model. *Mol. Carcinog.*, in press, 2005.

23. Sripa, B., Miwa, M., et al. Establishment and characterization of an opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma cell line(KKU-100). *W. J. Gastroenterol.*, in press, 2005.
24. Iida, S., Marumoto, T., et al. The tumor suppressor WARTS ensures genomic integrity by regulating both mitotic progression and G<sub>1</sub> tetraploidy checkpoint function. *Oncogene*, 23: 5266-5274, 2004.
25. Honda, S., Marumoto, T., et al. Activation of m-calpain is required for chromosome alignment on the metaphase plate during mitosis. *J. Biol. Chem.*, 279: 10615-10623, 2004.
26. Zhang, D., Marumoto, T., et al. Cre-lox-controlled periodic Aurora-A Overexpression induced mitotic Abnormalities and hyperplasia in mammary glands of mouse models. *Oncogene*, 23: 8720-8730, 2004.
27. Marumoto, T., et al. Aurora-A – A guardian of poles. *Nature Reviews/Cancer*, 5: 42-50, 2005.
28. Kobayashi, J., Komatsu, K., et al. Nbs1 and its Functional Role in the DNA Damage Response. *DNA Repair*, 3: 855-861, 2004.
29. Cheng, W., Komatsu, K., et al. Functional Link between Werner Syndrome protein and the Mre11 complex via Nbs1. *J Biol. Chem.*, 14: 21169-76, 2004.
30. Iijima, K., Komatsu, K., et al. The Nijmegen breakage syndrome gene and its role in genome stability. *Chromosoma*, 113: 53-61, 2004.
31. Matsuura, S., Komatsu, K., et al. Nijmegen breakage syndrome and DNA double strand break repair by NBS1 complex. *Adv. Biophys.*, 38: 65-80, 2004.
32. Yamamoto, K., Komatsu, K., et al. Fanconi Anemia protein FANCD2 promotes immunoglobulin gene conversion and DNA repair through a mechanism related to homologous recombination. *Mol. Cell. Biol.*, 25: 34-43, 2005.
33. Cheng, W., Komatsu, K., et al. Werner syndrome protein associates with gamma H2AX in a manner that depends upon NBS1. *FEBS Letters*, in press, 2005.
34. Chen, L., Komatsu, K., et al. Ataxia-telangiectasia-mutated dependent phosphorylation of Artemis in response to DNA damage. *Cancer Sci.*, 96:134-141, 2005.
35. Goto, J., Ohta, T., et al. Altered gene expression in the adult brain of fyn-deficient mice. *Cell Mol. Neurobiol.*, 24: 49-59, 2004.
36. Tanaka, Y., Ohta, T., et al. Expression and purification of recombinant human histones. *Methods*, 33: 3-11, 2004.
37. Kobayashi, A., Ohta, T., et al. Unique function of the Nrf2-Keap1 pathway in the inducible expression of antioxidant and detoxifying enzymes. *Methods Enzymology*, 378: 273-2786, 2004.
38. Aihara, H., Ohta, T., et al. Nucleosomal histone kinase-1 phosphorylates H2A Thr 119 during mitosis in the early *Drosophila* embryo. *Genes Dev.*, 18: 877-888, 2004.
39. Ishida, M., Ohta, T., et al. BRM and BRG1 Negatively Regulate Transcriptional Activity of the Synovial Sarcoma Translocation Gene Product. *Genes Cells*, 9: 419-428, 2004.
40. Chuma, M., Ohta, T., et al. Expression Profiling in Hepatocellular Carcinoma with Intrahepatic Metastasis: Identification of High-mobility Group I(Y) Protein as a Molecular Marker of Hepatocellular Carcinoma Metastasis. *Keio J. Med.*, 53: 90-97, 2004.
41. Shimada, H., Ohta, T., et al. First case of aplastic anemia in a Japanese child with a homozygous missense mutation in the NBS1 gene (I171V) associated with genomic instability. *Human Genetics*, 115: 372-376, 2004.
42. Chuma, M., Ohta, T., et al. Overexpression of cortactin is involved in motility and metastasis of hepatocellular carcinoma. *J. Hepatology*, 41: 629-636, 2004.
43. Sakiyama, T., Ohta, T., et al. Association of Amino Acid Substitution Polymorphisms in DNA Repair Genes, TP53, POLI, REV1 and LIG4, with Lung Cancer Risk. *Int. J. Cancer*, in press, 2005.
44. Fukui, T., Maki, H., et al. Distinct roles of DNA polymerases delta and epsilon at the replication fork in *Xenopus* egg extracts. *Genes to Cells*, 9: 179-191, 2004.
45. Pavlov, Y., Maki, H., et al. Evidence for interplay among yeast replicative DNA polymerases alpha, delta and epsilon from studies of exonuclease and polymerase active site mutations. *BMC Biology*, 2: 11, 2004.
46. Moritoh, S., Maki, H., et al. RNAi-mediated silencing of *OsGEN-L* (*OsGEN-like*), a new member of the RAD2/XPG nuclease family, causes male sterility by defect of microspore development in rice. *Plant and Cell Physiol.*, in press, 2005.

## 日本語論文

1. 三輪 正直, 金居正幸, 杉原英志, 大橋紗矢香, 野木康子, 花井修次 : (2)ポリADP-リボシル化による細胞機能、特に中心体と神経細胞機能の調節について. *ビタミン* 78(7):337-246, 2004.
2. 三輪 正直, 金居正幸, 花井修次 : ポリADPリボシル化研究の新展開 *実験医学* 22(9):1267-1273, 2004.
3. 槌田謙、小松賢志 : ファンコニー貧血と染色体不安定性、DNA複製・修復がわかる、花岡文雄、羊土社、pp117-124、2004.
4. 坂本修一、小松賢志 : Nijmegen染色体不安定症候群と発がん、医学のあゆみ、医歯薬出版株式会社、208 : 858-862、2004.
5. 大羽玲子、小松賢志 : ゲノム修復とがん、血液・腫瘍科、科学評論社、48 : 123-130 , 2004.