

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25640089

研究課題名(和文) シスプラチン抵抗性関連因子 ERCC1 の分解を誘導する新規低分子化合物の解析

研究課題名(英文) Analysis of a novel small-molecule compound inducing the degradation of a cisplatin resistance-related factor ERCC1

研究代表者

松永 司 (MATSUNAGA, Tsukasa)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：60192340

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々が見出したヌクレオチド除去修復阻害化合物(NERi)が、シスプラチンの抗腫瘍作用増強剤となりうるか検討を行った。まず、胃癌由来KKLS細胞および卵巣癌由来A2780細胞を用いたコロニーアッセイで、NERiは2～3倍の増強を示すことがわかった。また、シスプラチンで誘発される1,2-GpG架橋損傷の修復が、NERiの前処理により阻害されることを確認した。そこで、マウス肺癌由来LLC細胞をC57BL/6マウスに移植し、シスプラチンとNERiとの併用効果を調べたところ、シスプラチン単独処理に比べて有意に高い抗腫瘍作用が観察された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have analyzed whether a small-molecule inhibitor of nucleotide excision repair (NERi) we recently found can potentiate the cytotoxic effects of cisplatin in cancer cells. The clonogenic survival assay revealed that NERi treatment increases the cisplatin-sensitivity of KKLS stomach cancer cell lines and A2780 ovarian cancer cell lines 2-3 fold. Using an immunoassay with damage-specific antibody, we showed that the removal of cisplatin-induced DNA intrastrand crosslinks is markedly attenuated by NERi treatment. Furthermore, in vivo experiments using murine Lewis lung carcinoma and C57BL/6 mice revealed that a combination of cisplatin and NERi significantly suppresses tumor growth, compared with cisplatin alone.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：ヌクレオチド除去修復 阻害剤 抗癌剤 シスプラチン 低分子化合物 増感作用

(3) マウス癌移植系を用いたインビボ試験において、NERiKU001 がシスプラチンの抗腫瘍作用を増強するか検討したところ、併用群ではシスプラチン単独投与群と比較して有意に腫瘍体積増加が抑制されることがわかった。

以上の成果より、NERiKU001 は紫外線誘発 DNA 損傷のみに限らず、シスプラチンで誘発される DNA 鎖内架橋損傷の修復も阻害し、癌細胞のシスプラチン感受性を増感させることが明らかになった。この増感作用はインビボ試験でも同様に認められたことから、NERiKU001 はシスプラチンの増感剤として臨床応用が期待でき、今後この可能性を追求していきたい。

<引用文献>

Olaussen, K. A., Dunant, A., Fouret, P., Brambilla, E., André, F., Haddad, V., Taranchon, E., Filipits, M., Pirker, R., Popper, H. H., Stahel, R., Sabatier, L., Pignon, J. P., Tursz, T., Le Chevalier, T. and Soria, J. C.; IALT Bio Investigators (2006). DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy., *N. Engl. J. Med.* 355, 983-991.

Gossage, L. and Madhusudan, S. (2007). Current status of excision repair cross complementing-group 1 (ERCC1) in cancer. *Cancer Treat. Rev.* 33, 565-577.

Nishinaga, M., Kurata, R., Onishi, K., Kuriyama, K., Wakasugi, M. and Matsunaga, T. (2012). Establishment of a microplate-formatted cell-based immunoassay for rapid analysis of nucleotide excision repair ability in human primary cells., *Photochem. Photobiol.* 88, 356-362.

Kanoh, N., Honda, K., Simizu, S., Muroi, M. and Osada, H. (2005). Photo-cross-linked small-molecule affinity matrix for facilitating forward and reverse chemical genetics., *Angew. Chem. Int. Ed.* 44, 3559-3562.

Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., Yamaguchi, Y. and Handa, H. (2010). Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity., *Science* 327, 1345-1350.

Selvakumaran, M., Pisarcik, D. A., Bao, R., Yeung, A. T. and Hamilton, T. C. (2003). Enhanced cisplatin cytotoxicity by disturbing the nucleotide excision repair pathway in ovarian cancer cell lines., *Cancer Res.* 15, 1311-1316.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

Wakasugi, M., Sasaki, T., Matsumoto, M., Nagaoka, M., Inoue, K., Inobe, M., Horibata, K., Tanaka, K. and Matsunaga, T. (2014). Nucleotide excision repair-dependent DNA double-strand break formation and ATM signaling activation in mammalian quiescent cells., *J. Biol. Chem.* 289, 28730-28737. (査読有)

DOI: 10.1074/jbc.M114.589747

Enkhtuya, R., Sato, T., Wakasugi, M., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sakurai, T., Matsunaga, T. and Yoshioka, K. (2014). The scaffold protein JLP plays a key role in regulating ultraviolet B-induced apoptosis in mice., *Genes Cells* 19, 350-358. (査読有)

DOI: 10.1111/gtc.12135

Zhao, X., Nogawa, A., Matsunaga, T., Takegami, T., Nakagawa, H. and Ishigaki, Y. (2014). Proteasome inhibitors and knockdown of SMG1 cause accumulation of Upf1 and Upf2 in human cells., *Int. J. Oncol.* 44, 222-228. (査読有)

DOI: 10.3892/ijo.2013.2149

Mishima, T., Toda, S., Ando, Y., Matsunaga, T. and Inobe, M. (2014). Rapid proliferation of activated lymph node CD4+ T Cells is achieved by eliminating gap phases in cell cycle progression., *Cell. Mol. Biol. Lett.* 19, 638-648. (査読有)

DOI: 10.2478/s11658-014-0219-z

Ando, Y., Yasuoka, C., Mishima, T., Ikematsu, T., Uede, T., Matsunaga, T. and Inobe, M. (2014). Concanavalin A-mediated T cell proliferation is regulated by Herpes Virus Entry Mediator costimulatory molecule., *In Vitro Cell. Dev. Biol. - Animal* 50, 313-320. (査読有)

DOI: 10.1007/s11626-013-9705-2

[学会発表](計8件)

高森千枝、宮崎幸太郎、西永真理、大澤琢郎、若杉光生、松永 司：DNA 修復因子 ERCC1-XPF の安定性と細胞内局在性を決定する要因の解析、日本薬学会第 135 年会、平成 27 年 3 月 25 - 28 日、兵庫医療大学(神戸)

松永 司、齋藤臣雄、長田裕之、遠藤良夫：シスプラチン抵抗性関連因子 ERCC1 を分解誘導する新規低分子化合物の同定、第 18

回日本がん分子標的治療学会学術集会、平成 26 年 6 月 25 - 27 日、TKP ガーデンシティ仙台（仙台）

研究者番号：30211783

西永真理、宮崎幸太郎、福島直紀、高森千枝、若杉光生、斎藤臣雄、長田裕之、松永 司：ヌクレオチド除去修復を阻害する低分子化合物の作用機序に関する解析、第 36 回日本分子生物学会年会、平成 25 年 12 月 3 - 6 日、神戸ポートアイランド（神戸）

松永 司（招待講演）：新開発セルベースドアッセイ系を利用したヌクレオチド除去修復研究の新展開、日本環境変異原学会第 42 回大会・シンポジウム「光遺伝毒性」、平成 25 年 11 月 29 - 30 日、岡山コンベンションセンター（岡山）

松永 司、長田裕之、若杉光生：癌細胞のシスプラチン感受性を増感させるヌクレオチド除去修復阻害剤の作用機序、第 72 回日本癌学会学術総会、平成 25 年 10 月 3 - 5 日、パシフィコ横浜（横浜）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.p.kanazawa-u.ac.jp/~iden/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松永 司 (MATSUNAGA, Tsukasa)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：60192340

(2) 研究分担者

猪部 学 (INOBE, Manabu)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号：10312414

若杉 光生 (WAKASUGI, Mitsuo)

金沢大学・薬学系・助教

研究者番号：80345595

(平成 25 年度のみ)

西永 真理 (NISHINAGA, Mari)

富山県衛生研究所・研究員

研究者番号：10646681

(3) 連携研究者

国嶋崇隆 (KUNISHIMA, Munetaka)

金沢大学・薬学系・教授

研究者番号：10214975

小田彰史 (ODA, Akifumi)

金沢大学・薬学系・准教授

研究者番号：50433511

遠藤良夫 (ENDO Yoshio)

金沢大学・がん進展制御研究所・准教授