

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591492

研究課題名(和文) 相同組換え修復機構の解析による個別化放射線治療の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the molecular mechanism that regulates homologous recombination and its applications to personalized radiotherapy for cancer

研究代表者

細谷 紀子 (HOSOYA NORIKO)

東京大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：00396748

研究成果の概要(和文)：がんの集学的治療において放射線治療を効果的に利用するためには、個々のがんにおけるDNA損傷修復能力の特性を評価できるための科学的基盤の確立が不可欠である。本研究では、正常の体細胞では発現せず、がん細胞において特異的に発現するシナプトネマ複合体形成分子SYCP3に着目し、同分子の体細胞での役割について検討を行った。その結果、SYCP3が体細胞においてBRCA2分子の機能を抑制して相同組換え修復を抑制し、放射線感受性の亢進を来すことを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In order to develop an effective personalized radiotherapy for cancer according to the DNA repair status of individual patients, it is important to clarify the molecular mechanisms that regulate the DNA damage repair systems. In this study, we investigated the mitotic role of the synaptonemal complex protein SYCP3, which is not expressed in normal mitotic cells but aberrantly expressed in cancer cells. We found that SYCP3 inhibits the intrinsic homologous recombination pathway by interfering with BRCA2, leading to hypersensitivity to radiation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：がん、相同組換え、放射線治療

## 1. 研究開始当初の背景

放射線治療は、がん細胞のDNAに外的に二本鎖切断をはじめとする損傷を与えることによって、細胞死を引き起こすことを原理とした治療である。治療の成否は、付与されたDNA損傷が、がん細胞の持つDNA修復能力を

凌駕できるかどうかにかかっている。ゆえに、がん細胞のDNA二重鎖切断を修復する能力を知ることは、治療効果を予測する上で極めて重要であり、また、がんのDNA修復能力を制御するがん細胞に特有の因子があれば、それは治療の分子標的の候補となり得る。

相同組換えは、体細胞分裂におけるDNA二

重鎖切断の修復機構の1つであるとともに、減数分裂においても必須の機構である。体細胞分裂と減数分裂での相同組換えの両方において機能する分子もあれば、生殖細胞のみで特異的に発現して減数分裂での相同組換えにおいてのみ機能する「減数分裂特異的分子」もある。近年、減数分裂期特異的分子の中に、がん細胞において特異的に発現しているものがあることが知られるようになり、その特徴的な発現のパターンから、がん治療の標的としても着目されてきた。しかしながら、減数分裂期特異的分子のがん細胞での発現ががんの病態に果たしている役割は、これまでは一切明らかにされていない。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒトにおける相同組換え修復の制御機構を明らかにし、がん細胞において特有の相同組換え修復の異常を誘導する分子機構を解明することによって、個別化がん放射線治療を開発するための分子遺伝学的基盤を構築することである。

具体的には、減数分裂特異的相同組換え関連分子のがん細胞でも発現していることに着目し、これらの分子の体細胞での発現が、本来存在する正常の相同組換え修復能に及ぼす影響や染色体の安定性や放射線などによるDNA損傷に対する感受性の制御に果たしている役割を分子レベルで明らかにする。

## 3. 研究の方法

研究代表者の事前検討により、いくつかの減数分裂特異的分子が、がん細胞で発現していることが明らかになっている。本研究では、それらの分子のうち、減数分裂第一前期において相同染色体を結合させる減数分裂特異的な構造物であるシナプトネマ複合体の形成分子の1つであるSYCP3分子に焦点をあてて、同分子の体細胞での役割を解析する。

SYCP3を安定発現する体細胞株を樹立し、がんの特徴の1つである染色体の数的異常が引き起こされるかどうかを、染色体特異的セントロメアプローブを用いたFISH法により解析する。また、電離放射線照射などのDNA損傷を与えた後のDNA損傷に対する感受性の変化をコロニー形成法により解析する。

SYCP3安定発現細胞株の表現型を手がかりに、SYCP3の体細胞での発現により、どのDNA損傷応答経路のどの分子が直接の標的になっているのかを探索し、同定する。相同組換え修復の異常が想定される場合には、免疫染色法によるDNA損傷依存性のRAD51フォーカス形成能の解析、姉妹染色分体交換の解析を行う。免疫染色法、免疫沈降・ウェスタンブ

ロット法、リアルタイムPCR法などにより、SYCP3安定発現細胞株における各種DNA損傷応答分子の挙動やSYCP3との共局在・相互作用の有無、蛋白質翻訳後修飾の変化、発現レベルの変化などを調べる。

SYCP3発現細胞で観察される主要な表現型については、SYCP3を内因性に発現しているがん細胞において、SYCP3の機能をRNA干渉法により低下させることにより、表現型が正常に回復するかどうかを確認する。

## 4. 研究成果

SYCP3は、正常の体細胞では発現せず、生殖細胞および様々な臓器由来のがん細胞において発現していた。

SYCP3を安定発現する体細胞株では、染色体の数的異常の頻度の増加、電離放射線やDNA架橋剤であるシスプラチンに対する感受性の亢進が見られた。また、放射線非照射時における $\gamma$ H2AXのフォーカスが増加しており、自発的DNA損傷が蓄積していることが示唆された。また、放射線照射時のRAD51のフォーカス形成能の低下、姉妹染色分体交換の頻度の低下が見られたことから、SYCP3発現細胞ではRAD51依存性の相同組換え修復能が低下していることも示唆された。

SYCP3とDNA損傷応答・相同組換え修復に関与する様々な分子の挙動を二重免疫染色法で検討したところ、SYCP3が相同組換えに重要な役割を果たす乳がんの原因分子BRCA2と共局在することが分かった。免疫沈降・ウェスタンブロット法により、SYCP3とBRCA2が複合体を形成することも確認できた。さらに、SYCP3の発現により、DNA損傷時のBRCA2とRAD51の結合が抑制されることをSYCP3の強制発現の系やSYCP3を内因性に発現するがん細胞におけるノックダウンの系の両方で確認した。

以上のことから、SYCP3は、体細胞において、BRCA2の機能を抑制し、相同組換え修復能を低下させ、その結果として、染色体不安定性を引き起こしてがんの進展に寄与し、放射線などのDNA損傷に対する感受性を亢進させると考えられる。

SYCP3発現が放射線治療に対する高感受性のマーカーになり得るばかりでなく、SYCP3がBRCA2の機能を抑制することから、SYCP3を発現するがんに対して合成致死の原理を利用してPARP阻害剤を使用するという新しい治療戦略の構築も期待できる。このような観点から、さらに基礎的検討を進めていく方針である。

## 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 11 件)

- (1) Takaku M, Takahashi D, Machida S, Ueno H, Hosoya N, Ikawa S, Miyagawa K, Shibata T, Kurumizaka H. Single-stranded DNA catenation mediated by human EVL and a type I topoisomerase. *Nucleic Acids Res*, 38(21):7579-7586. 2010. 査読有
- (2) 細谷紀子、宮川清：DNA損傷修復とがん治療 がん分子標的療法 8(2):26-35. 2010. 査読無
- (3) 細谷紀子、宮川清：DNA損傷修復研究に基づくがん治療 放射線生物研究 45(1):1-11. 2010. 査読無
- (4) Suzuki HI, Hosoya N, Miyagawa K, Ota S, Nakashima H, Makita N, Kurokawa M. Erdheim-Chester disease: multisystem involvement and management with interferon- $\alpha$ . *Leukemia Research*, 34(1): e21-24. 2010. 査読有
- (5) 細谷紀子、宮川清：放射線によって生じるDNA二本鎖切断を修復する経路 細胞工学 29(1):21-27, 2010. 査読無
- (6) Takaku M, Machida S, Hosoya N, Nakayama S, Takizawa Y, Sakane I, Shibata T, Miyagawa K, Kurumizaka H. Recombination activator function of the novel RAD51- and RAD51B-binding protein, Human EVL. *J Biol Chem* 284(21):14326-14336. 2009. 査読有
- (7) Hosoya N, Miyagawa K. Clinical importance of DNA repair inhibitors in cancer therapy. *Magazine of European Medical Oncology* 2:9-14. 2009. 査読有
- (8) Tomoda Y, Katsura M, Okajima M, Hosoya N, Kohno N, Miyagawa K. Functional evidence for Emel as a marker of cisplatin resistance. *Int J Cancer* 124(12):2997-3001. 2009. 査読有
- (9) Suzuki HI, Hangaishi A, Hosoya N, Watanabe T, Kanda Y, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Herpes simplex encephalitis and subsequent cytomegalovirus encephalitis after chemoradiotherapy for central nervous system lymphoma: a case report and literature review. *Int J Hematol*. 87(5):538-541. 2008. 査読有
- (10) Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Kako S, Shinohara A, Nakasone H, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Clinical features of late cytomegalovirus infection after hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*.

87(3):310-318. 2008. 査読有

- (11) Asano-Mori Y, Kanda Y, Oshima K, Kako S, Shinohara A, Nakasone H, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Izutsu K, Asai T, Hangaishi A, Motokura T, Chiba S, Kurokawa M. Long-term ultra-low-dose acyclovir against varicella-zoster virus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol*. 83(6):472-476. 2008. 査読有

〔学会発表〕(計 16 件)

- (1) Hosoya N, Miyagawa K. The role of the meiosis-specific protein SYCP3 in inducing genomic instability and implications for cancer therapy. 2011 *Keystone Symposia Conference (B4: Genomic Instability and DNA Repair)*, Keystone Resort, Keystone, Colorado, USA, January 31, 2011
- (2) 細谷紀子、宮川清：SYCP3 is a novel BRCA2-interacting protein that induces genomic instability in cancer 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会, 2010年12月8-9日, 神戸国際会議場・神戸ポートピアホテル (兵庫県 神戸市)
- (3) Hosoya N: A role for meiosis-specific proteins in regulating homologous recombination in cancer 日本放射線影響学会第53回大会 シンポジウム「DNA damage response and disease」, 2010年10月21日, 京都テルサ (京都府 京都市)
- (4) 細谷紀子、宮川清：がん精巣抗原の発現による染色体安定性の破綻 (Impaired chromosome stability caused by aberrant expression of the cancer/testis antigens) 第72回日本血液学会総会, 2010年9月24日, パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- (5) 細谷紀子、宮川清：シナプトネマ複合体形成分子SYCP3はがん細胞における内因性の相同組換え修復経路を抑制する (The synaptonemal complex protein SYCP3 inhibits the intrinsic homologous recombination pathway in cancer) 第69回日本癌学会学術総会, 大阪, 2010年9月22日, 大阪国際会議場・リーガロイヤルホテル大阪 (大阪府 大阪市)
- (6) 細谷紀子、宮川清：がん精巣抗原SYCP3による細胞核内での相同組換え修復蛋白の動態の制御機構 第9回核ダイナミクス研究会, 2010年5月27日, ラフォーレ修善寺 (静岡県 伊豆市)
- (7) 細谷紀子、西村智子、藤井義大、宮川清：The meiosis-specific synaptonemal

complex proteins modulate the intrinsic homologous recombination pathway in human cancer cells 第32回日本分子生物学会年会ワークショップ「3W8 相同組換え研究の新展開」, 2009年12月11日, パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)

- (8) 細谷紀子、宮川清: SYCE2分子の体細胞での発現による放射線感受性と相同組換え修復への影響 日本放射線影響学会第52回大会, 広島, 2009年11月12日, 広島市南区民文化センター (広島県 広島市)
- (9) 細谷紀子: DNA損傷修復システムの異常と腫瘍 広島大学 平成21年度第19回数理解分子生命理学セミナー (兼 広島大学第10回CAPWRセミナー), 2009年11月10日, 広島大学 (広島県 東広島市)
- (10) 細谷紀子、波多野裕明、宮川清: SYCE2は放射線抵抗性を誘導する新規癌精巣抗原である 第71回日本血液学会総会, 2009年10月24日, 国立京都国際会館 (京都府 京都市)
- (11) 細谷紀子、宮川清: SYCE2は相同組換えの異常と放射線抵抗性を誘導する新規癌精巣抗原である (SYCE2 is a novel cancer/testis antigen that induces radioresistance by modulating homologous recombination pathway) 第68回日本癌学会学術総会, 2009年10月3日, パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- (12) Hosoya N, Miyagawa K. The meiosis-specific synaptonemal complex protein SYCP3 is a cancer/testis antigen that increases radiosensitivity by reducing recombination in cancer. *The 11th International Wolfsberg Meeting on Molecular Radiation Biology/Oncology, Wolfsberg Castle Conference Center, Ermatingen, Switzerland, June 27, 2009*
- (13) 細谷紀子、西村智子、宮川清: 減数分裂期特異的相同組換えに関与する分子の体細胞における役割 第31回日本分子生物学会年会・第81回日本生化学会大会 合同大会, 神戸, 2008年12月10日, 神戸ポートアイランド (兵庫県 神戸市)
- (14) 細谷紀子、西村智子、宮川清: 減数分裂期特異的な相同組換え関連分子の体細胞における役割 日本放射線影響学会第51回大会, 2008年11月20日, 北九州国際会議場 (福岡県 北九州市)
- (15) 細谷紀子、西村智子、宮川清: 減数分裂特異的分子SYCP3の体細胞での異所性発現は放射線感受性を増加させる (Expression of the meiosis-specific synaptonemal complex protein SYCP3 increases radiosensitivity in somatic cells) 第67回日本癌学会学術総会, 2008年10月28日, 名古屋国際会議場 (愛知県 名古屋市)

- (16) 細谷紀子、宮川清: 減数分裂特異的相同組換えに関与する分子の腫瘍における異所性発現の役割 第70回日本血液学会総会, 2008年10月11日, 国立京都国際会館 (京都府 京都市)

[図書] (計1件)

- (1) 細谷紀子: 抗がん剤の種類と特徴 エキスパートナース がん治療・ケア 実践ガイド part 2, p9-23, 2009. (照林社)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

細谷 紀子 (HOSOYA NORIKO)  
東京大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 00396748

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし