

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659653

研究課題名(和文) 膠芽腫組織におけるDNA損傷応答のダイナミクス—新たな治療法の確立にむけて—

研究課題名(英文) The dynamics of DNA damage response in glioblastoma-Toward the development of new therapy-

研究代表者

吉本 幸司 (YOSHIMOTO, KOJI)

九州大学・大学病院・講師

研究者番号：70444784

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：DNA損傷応答は、生体機能を維持するためにDNA修復を行ったり、修復が不可能なほど損傷が加わった場合は細胞死を誘導し生体内から除去する防御機構である。DNA損傷応答の破綻はゲノムの不安定性をもたらす、癌化を誘発することから癌抑制的な働きがあると考えられている。本研究では膠芽腫組織においてDNA修復に重要な役割を果たすATM/CHK2経路が不活化されており、病態形成に関与していることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Cellular DNA is exposed to various kinds of DNA damage inducers. To combat these DNA damage, normal cells have intrinsic DNA damage response (DDR) system to protect the cell from endogenous and exogenous DNA damage inducer. In this study, we demonstrated that ATM/Chk2 pathway is inactivated in glioblastoma tissue, indicating that ATM/Chk2 pathway functions as tumor suppressor in the process of tumorigenesis.

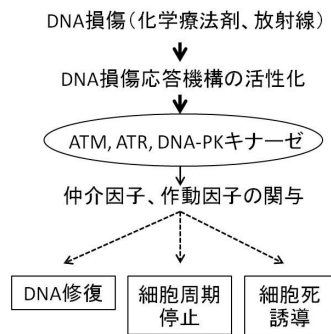
研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：脳腫瘍

1. 研究開始当初の背景

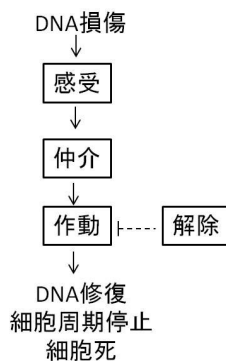
DNA 損傷応答は、生体 DNA に加わる損傷から生体機能を維持するために DNA 修復を行ったり、修復が不可能なほど損傷が加わった場合は細胞死を誘導し生体内から除去する防御機構である。DNA 損傷応答の破綻はゲノムや染色体の不安定性をもたらし、癌化を誘発することが知られている。我々はこれまで膠芽腫を中心とする神経膠腫の遺伝子解析を継続して行っており、膠芽腫では染色体不安定性が顕著に認められること、悪性化の段階で染色体不安定性が増強されることを確認している。このことから膠芽腫においては DNA 損傷



応答システムに異常を来していることが考えられる。一方、膠芽腫に限らず悪性腫瘍の治療においては、非外科的治療として放射線、化学療法(細胞障害性抗癌剤)を行うのが一般的であるが、これらは腫瘍細胞に DNA 損傷を引き起こし治療効果を発揮する。したがってこれらの DNA 損傷刺激から腫瘍細胞を守ろうとする DNA 損傷応答は、治療抵抗性を規定する「もろ刃の剣」的な側面を持ち合わせている。以上のことから DNA 損傷応答の制御メカニズムの解明は膠芽腫の病態解明と新たな治療法の確立に重要だと考え本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、DNA 損傷応答が膠芽腫組織においてどのように活性化されるかを明らかにすることである。具体的には以下の分類ごとの DNA 損傷応答関連分子の



発現を解析する。

DNA 損傷応答蛋白の機能分類

- (1) DNA 損傷を感知する「感受」群
-----ATM, ATR, DNA-PK 等
- (2) 損傷シグナルを伝達する「仲介」群
-----MDC1, NBS1, 53BP1, BRCA1 等
- (3) DNA 修復、細胞周期停止、細胞死などを引き起こす「作動」群-----CHK1, CHK2 等
- (4) DNA 損傷応答システムを停止させる元の状態に戻す「解除」群

3. 研究の方法

まず免疫染色により上記の DNA 損傷応答関連分子の発現を解析した。また ATM, ATR, DNA-PK の発現に関しては real time RT-PCR 法を用いて mRNA の発現解析を行った。これらの発現解析の結果と当院で行っている遺伝子解析、臨床予後との相関についても検討した。

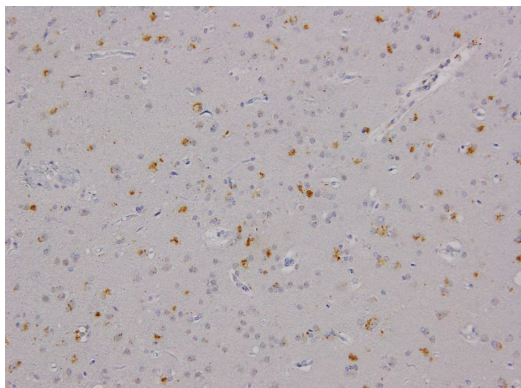
4. 研究成果

ATM, ATR については 60-70%の症例で、DNA-PK ではすべての症例で核に発現が認められた。MDC1, NBS1, 53BP1 の仲介群についても全例で核に強い発現が認められた。しかし、BRCA1 については腫瘍細胞には発現が認められず、reactive-astrocyte にのみ発現が検出できた。一方、CHK1 については膠芽腫組織では活性化が認められず、CHK2 は 60%の症例で活性化されていた。DNA2 本鎖切断のマーカーである -H2AX の発現についても解析を行ったところ、腫瘍細胞全体でびまん性に発現が認められた。これらの結果から膠芽腫組織では内在性に DNA 損傷が引き起こされており、損傷応答システムが恒常的に活性化されていることが示唆された。

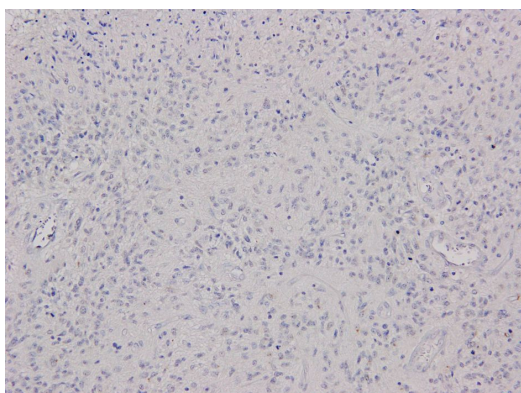
次に治療を感受性を特に規定していると考えられる ATM/Chk2 経路について詳しく解析した。その結果、活性化型であるリン酸化 ATM は腫瘍辺縁の浸潤部位で強く発現してお

り、腫瘍中心部での発現低かった(下図参照)

p-ATM の発現 (腫瘍浸潤部位)



p-ATM の発現 (腫瘍中心部)

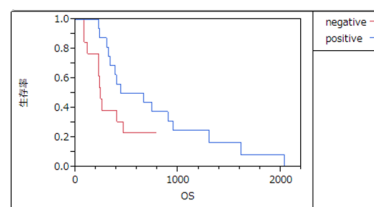


ATM は腫瘍の浸潤部位で活性化しており、腫瘍中心では染色されない。

これは glioblastoma で DNA damage response が破たんしていることを示している。

また RNA レベルでの発現解析では ATM の発現は low grade の方が高く、膠芽腫では発現が優位に低かった。しかも p-ATM を発現している膠芽腫は発現していない腫瘍よりも優位に生存期間が長かった(右上図)。

GBMにおけるp-ATMの発現とOSの相関



Median OS [p-ATM (+): 243days
p-ATM (-): 551days

p-ATMが発現しているGBM症例では有意に生存期間が長い

これらの結果から ATM はグリオーマにおいて癌抑制遺伝子としての機能を有していると推測される。特に悪性グリオーマでは ATM/Chk2 シグナル伝達系の変異が治療抵抗性の一因になっている可能性が考えられ、今後の新たな治療標的になると考えられた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

吉本幸司、村田秀樹、波多江龍亮、溝口昌弘
グリオーマにおける ATM/Chk2 シグナル伝達系変異の意義

日本脳神経外科学会第 72 回学術総会 2013 年
10 月 17 日、横浜

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉本 幸司 (YOSHIMOTO KOJI)
九州大学・大学病院・講師
研究者番号：70444784

(2) 研究分担者

秦 暢宏 (HATA NOBUHIRO)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：10596034

天野 敏之 (AMANO TOSHIYUKI)
九州大学・大学病院・助教
研究者番号：70448413

中溝 玲 (NAKAMIZO AKIRA)
九州大学・医学研究院・講師
研究者番号：80529800

(3) 連携研究者

()

研究者番号：