

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461881

研究課題名(和文) DNA損傷応答経路の阻害による放射線増感を利用した新しいがん治療の開発

研究課題名(英文) Development of a novel cancer therapy combining DNA damage response inhibitors and radiotherapy

研究代表者

細谷 紀子 (Hosoya, Noriko)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・講師

研究者番号：00396748

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：DNA損傷応答経路を標的としたがん治療を効果的に行うためには、個々のがんにおいてDNA損傷応答異常が引き起こされるメカニズムを明らかにすることが必要である。本研究では、がん細胞において異所性に発現するシナプトネマ複合体形成分子SYCE2の体細胞における役割を検討し、SYCE2がATM依存性のDNA損傷応答を活性化して放射線抵抗性を来すこと、そして、ATM阻害剤の投与によりSYCE2発現細胞で見られる放射線抵抗性の表現型が消失することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：In order to develop effective cancer therapies targeting DNA damage response, it is important to clarify the molecular mechanisms which induce abnormalities in DNA damage response in each cancer. In this study, we investigated the mitotic roles of the synaptonemal complex protein SYCE2, which is not expressed in normal mitotic cells but aberrantly expressed in cancer. We found that SYCE2 activates the ATM-mediated DNA damage response and induces radioresistance and that treatment with the ATM inhibitor abrogates radioresistance observed in SYCE2-expressing cells.

研究分野：放射線生物学、分子腫瘍学

キーワード：DNA損傷応答 放射線抵抗性 がん

## 1. 研究開始当初の背景

近年、がん細胞に存在する DNA 損傷応答機能の異常に着目して DNA 損傷応答経路の阻害剤を利用する治療が注目されており、増感効果を目指した放射線治療との併用療法だけでなく、分子標的療法として単剤での利用も提唱されている。しかしながら、このような治療の感受性規定因子が十分に同定されていないため、治療の適用範囲は未だ限られているのが現状である。

研究代表者は、正常の体細胞ではほとんど発現しないが、がんにおいて特異的に発現する減数分裂関連分子群の体細胞における役割について検討を進めていく中で、そのような分子群の少なくとも一部は、DNA 損傷応答に影響を与え、放射線感受性に変化をもたらすことを見出ししてきた。例えば、シナプトネマ複合体形成分子である SYCP3 は、様々ながんにおいて異所性に発現する。研究代表者は、SYCP3 が体細胞において遺伝性乳癌の原因遺伝子産物である BRCA2 と複合体を形成して DNA 相同組換え修復能を抑制し、放射線感受性を亢進させることを発見した。さらに、一本鎖切断修復分子 PARP の阻害剤と放射線治療の併用が SYCP3 を発現するがんに対して有効である可能性を示した (Hosoya et al, EMBO Rep, 2012)。

がんにおける DNA 損傷応答は、様々な制御因子によって多様な制御を受けていることが想定される。そのような制御因子とその作用機序が明らかになり、がん細胞だけに特異的に「致死」が達成されるような治療の標的分子が同定されれば、各々のがんの DNA 損傷応答能の特性に基づいた DNA 損傷応答を標的とした治療が可能になることが期待される。

## 2. 研究の目的

本研究では、がんにおいて DNA 損傷応答の異常を誘導し得る制御因子を同定し、その作用機序を解明することにより、DNA 損傷応答経路の阻害による放射線増感を利用した新しい治療を開発するための分子基盤を構築することを目的とする。具体的には、上述の SYCP3 以外の減数分裂特異的関連分子のうち、研究代表者の事前検討により、がん細胞でも異所性に発現しており、放射線抵抗性を来すことが既に分かっている別の減数分裂特異的シナプトネマ複合体形成分子である SYCE2 分子に特に焦点をあて、SYCE2 が体細胞における DNA 損傷応答の制御にどのような役割を果たしているのかを分子レベルで明らかにし、その作用機序に基づいた DNA 損傷応答を標的とした治療戦略を構築する。

## 3. 研究の方法

正常細胞やがん細胞における SYCE2 の発現をリアルタイム PCR 法で解析する。

SYCE2 が体細胞で発現すると、細胞が放射線抵抗性を獲得するという事前検討結果から、SYCE2 の発現により DNA 損傷応答が活性化される可能性が想定される。したがって、SYCE2 の体細胞での強制発現やがん細胞における同分子の発現抑制を行った場合の DNA 損傷応答分子群の挙動の変化 (核内フォーカス形成能の変化、リン酸化などの修飾の変化、発現量の変化、新たな分子間結合の有無など) を調べ、SYCE2 の標的となっている DNA 損傷応答関連分子の候補を探索する。DNA 損傷応答シグナルの上流で働くメディエーター分子 ATM など、なるべく DNA 損傷応答の上流で働く分子群から検討していく。

SYCE2 の標的とする DNA 損傷応答分子や下流のエフェクターへの影響に基づき、SYCE2 の作用機序に基づいた治療戦略を構築する。(今回の場合、ATM が主要な標的分子の候補であることが判明したため) SYCE2 発現がんに対する ATM 阻害剤と放射線治療の併用による放射線増感を試みる。具体的には、SYCE2 を発現するがん細胞株や SYCE2 の強制発現細胞に対して、24 時間 10 $\mu$ M の ATM 阻害剤 (KU55933) を投与した後、X 線照射を行い、7-10 日後に生存するコロニーを計数し、ATM 阻害剤を投与しない群との比較を行う。

## 4. 研究成果

減数分裂関連分子 SYCE2 は、生殖細胞において高発現し、減数分裂特異的シナプトネマ複合体を形成する分子の 1 つである。細胞株を用いた発現解析により、SYCE2 は、正常の体細胞では極めて低レベルの発現しか示さないが、造血器腫瘍や乳がん細胞をはじめとするがん細胞において発現レベルが上昇していることが確認された。

事前検討により、正常上皮細胞株 RPE に SYCE2 を安定発現させた細胞株が、ベクターのみを導入したコントロール細胞と比較して放射線抵抗性を示すこと、また、逆に、SYCE2 を発現しているがん細胞株において SYCE2 をノックダウンすると、放射線に対する細胞の感受性が亢進することが確認されていたことから、SYCE2 の発現によって DNA 損傷応答が影響を受けている可能性が考えられた。実際に、SYCE2 発現細胞においては、コントロール細胞に比べて ATM の自己リン酸化が亢進していることが免疫沈降・ウェスタンブロット法や免疫染色法により示された。さらに、SYCE2 発現細胞においては、DNA 修復関連分子 RAD51 や 53BP1 の放射線依存性のフォーカス形成の亢進が見られ、SYCE2 発現細胞において SYCE2 をノックダウンすると、DNA 二本鎖切断修復経路である相同組み換え修復と非同源末端結合の両経路の効率が低下することも明らかになった。これらのことから、SYCE2 発現細胞では、ATM を介した DNA 損傷応答が活性化されて DNA 二本鎖切断修復が亢進し、放射線抵抗性が誘導されている可

能性が示唆された。

次に、SYCE2 発現細胞を ATM の阻害剤である KU55933 で処理すると、コントロール細胞に対して SYCE2 発現細胞が示していた放射線抵抗性の表現型が消失し、SYCE2 をほとんど発現しない正常細胞とほぼ同等のレベルの細胞生存率を示すようになることが分かった。また、ATM 阻害剤の投与により、SYCE2 発現細胞に見られる DNA 修復関連分子 RAD51 や 53BP1 の放射線依存性のフォーカス形成の亢進の表現型も消失し、SYCE2 を発現しない細胞とほぼ同等のレベルまで低下することが分かった。以上のことから、SYCE2 発現細胞が放射線抵抗性を示す背景に ATM 依存性の DNA 修復の亢進が大きく寄与しており、SYCE2 発現陽性がんに対する治療において、SYCE2 そのものを阻害したり、ATM 阻害剤を用いたりすることが、放射線治療への抵抗性を克服するために有効である可能性が示唆された。ただし、ATM 阻害剤は、SYCE2 をほとんど発現しない正常細胞に対しても細胞生存率を低下させてしまうことから、放射線治療時の至適の投与方法についてはさらに詳細な検討が必要である。

SYCE2 による ATM の活性化のメカニズムを解明するため、SYCE2 発現による核内構造への影響についても解析を進めており、SYCE2 発現がんにおける ATM 阻害剤と併用可能な分子標的の同定につながる可能性が期待される。

#### 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 5 件)

- ① 細谷紀子 : がんの集学的治療の基盤となる放射線生物学 放射線, 42(2) : 39-42, 2017. 査読無
- ② Miyasaka A, Oda K, Ikeda Y, Kashiyama T, Fukuda T, Inaba K, Enomoto A, Hosoya N, Koso T, Makii C, Asada K, Tanikawa M, Sone K, Uehara Y, Kurikawa R, Arimoto T, Kuramoto H, Wada-Hiraike O, Miyagawa K, Yano T, Kawana K, Osuga Y, Fujii T. PI3K/mTOR pathway inhibition overcomes radioresistance via suppression of the HIF1- $\alpha$ /VEGF pathway in endometrial cancer. *Gynecol Oncol*, 138(1):174-180. 2015. 査読有 doi: 10.1016/j.ygyno.2015.04.015.
- ③ 細谷紀子 : 染色体不安定性誘導における DNA 二本鎖切断修復の役割 細胞, 47(5) : 9-12, 2015. 査読無
- ④ Hosoya N, Miyagawa K. The DNA damage responses: important determinants of

the biological responses to radiation. *Journal of Integrated Creative Studies*, 1(1): No. 01503002, 2015. 査読有 doi: 10.14989/199809

- ⑤ Hosoya N, Miyagawa K. Targeting DNA damage response in cancer therapy. *Cancer Sci*, 105(4): 370-388. 2014. 査読有 doi: 10.1111/cas.12366.

[学会発表] (計 19 件)

- ① Hosoya N, Miyagawa K. The synaptonemal complex protein SYCE2 potentiates ATM-mediated DNA repair activity in cancer. ATW2017 (Ataxia-Telangiectasia Workshop), IFOM, Milan, Italy, March 21, 2017.
- ② 細谷紀子、宮川清 : シナプトネマ複合体形成分子 SYCE2 は HP1 の機能を制御して DNA 損傷応答と修復を亢進させる 第 39 回日本分子生物学会年会 シンポジウム 3PS3 「多様な DNA 損傷応答の統合制御機構: 経路選択とクロストーク」, 2016 年 12 月 1 日、2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- ③ 細谷紀子 : 放射線研究から医学のパラダイムシフトへ 日本放射線腫瘍学会第 29 回学術大会 「キュリー夫人人生誕 150 年記念シンポジウム」, 2016 年 11 月 27 日、国立京都国際会館 (京都府 京都市)
- ④ Hosoya N, Miyagawa K. The synaptonemal complex protein SYCE2 promotes DNA damage response and repair by affecting the function of Heterochromatin Protein 1. The 10th 3R (DNA Replication, Recombination, and Repair) International Symposium, 2016 年 11 月 14 日、ホテル一畑 (島根県 松江市)
- ⑤ 細谷紀子、宮川清 : 医学教育の現状 日本放射線影響学会第 59 回大会 ワークショップ「医学部における”放射線影響リスク科学”教育の推進の現況と課題」, 2016 年 10 月 27 日、JMS アステールプラザ (広島県 広島市)
- ⑥ 細谷紀子、宮川清 : シナプトネマ複合体形成分子 SYCE2 は DNA 修復を亢進して染色体不安定性を誘導する 第 78 回日本血液学会学術総会, 2016 年 10 月 14 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- ⑦ 細谷紀子、宮川清 : The roles of the meiosis-related proteins in

regulating DNA damage response in cancer 第 75 回日本癌学会学術総会 特別シンポジウム 2「癌研究における女性研究者」, 2016 年 10 月 7 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)

- ⑧ 細谷紀子: 「DNA 損傷応答研究の役割と将来展望」平成 28 年度放射線安全管理研修会, 2016 年 9 月 28 日、文京シビックホール (東京都 文京区)
- ⑨ 細谷紀子: 遺伝子を守る仕組みと病気新学術領域「動的クロマチン構造と機能」一般公開シンポジウム「遺伝子のすがたカラダの中でおこる不思議」, 2016 年 8 月 21 日、早稲田大学国際会議場井深大記念ホール (東京都 新宿区)
- ⑩ 細谷紀子: がんの集学的治療の基盤となる放射線生物学 応用物理学会放射線分科会 第 28 回放射線夏の学校/原子力学会放射線工学部会 平成 28 年度夏期セミナー, 2016 年 8 月 2 日、リゾートイン白浜 (千葉県 南房総市)
- ⑪ 細谷紀子、小野雅人、宮川清: シナプトネマ複合体形成分子 SYCE2 はヘテロクロマチン蛋白質の機能を制御して DNA 二本鎖切断修復を亢進させる BMB2015 (第 38 回日本分子生物学会年会/第 88 回日本生化学会大会 合同大会), 2015 年 12 月 3 日、神戸ポートアイランド・神戸国際会議場・神戸国際展示場・神戸ポートピアホテル (兵庫県 神戸市)
- ⑫ 細谷紀子、宮川清: The synaptonemal complex protein SYCE2 promotes DNA double-strand break repair by modulating chromatin structure 第 74 回日本癌学会学術総会, 2015 年 10 月 10 日、名古屋国際会議場 (愛知県 名古屋市)
- ⑬ Hosoya N, Ono M, Miyagawa K. The synaptonemal complex protein SYCE2 induces radioresistance through aberrant activation of ATM in cancer. The 15th International Congress of Radiation Research, Kyoto, Japan, 2015 年 5 月 26 日、国立京都国際会館 (京都府 京都市)
- ⑭ 細谷紀子: 腫瘍血管の新生を阻害する 第 74 回日本医学放射線学会総会シンポジウム「Special Focus Seminar 「がん化学療法」の最近の進歩 -放射線科医が押さえておくべきポイント-」, 2015 年 4 月 18 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- ⑮ 細谷紀子、小野雅人、宮川清: シナプト

ネマ複合体形成分子 SYCE2 の体細胞発現は放射線抵抗性を誘導する 第 17 回癌治療増感研究シンポジウム, 2015 年 2 月 7 日、奈良文化会館 (奈良県 奈良市)

- ⑯ 細谷紀子、宮川清: The role of non-mutational processes in regulating DNA damage responses in cancer 第 37 回日本分子生物学会年会, 2014 年 11 月 27 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)
- ⑰ 細谷紀子、宮川清: 減数分裂特異的分子 SYCE2 の体細胞発現による DNA 損傷抵抗性の誘導 第 130 回小児血液腫瘍免疫懇話会, 2014 年 10 月 17 日、東京医科歯科大学 (東京都 文京区)
- ⑱ 細谷紀子: がん精巣抗原による ATM の活性制御とがんの病態における役割 日本放射線影響学会第 57 回大会シンポジウム「ATM, NBS1 の新たな分子機能の解明と疾患との関わり」, 2014 年 10 月 1 日、かごしま県民交流センター (鹿児島県 鹿児島市)
- ⑲ 細谷紀子、宮川清: The cancer-testis antigen SYCE2 promotes DNA double-strand break repair through activation of ATM 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 27 日、パシフィコ横浜 (神奈川県 横浜市)

## 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・講師  
研究者番号: 00396748
- (2) 研究分担者  
無
- (3) 連携研究者  
無