

## LKB1/CBP/p300 がん抑制遺伝子の失活がもたらす ヒト肺がん細胞の DNA 切断修復異常の解明

### [1] 組織

代表者：河野 隆志  
(国立がん研究センター研究所)  
対応者：安井 明  
(東北大学加齢医学研究所)  
分担者：荻原 秀明  
(国立がん研究センター研究所)

研究費：物件費 25 万円

### [2] 研究経過

近年、がん細胞ではDNA切断修復機構に欠損に生じているものがあり、その欠損は合成致死(synthetic lethality)を用いた有効な分子標的治療の標的となりうるということが明らかになりつつある。例えば、BRCA1、BRCA2遺伝子の異常を有する乳がん細胞ではDNA切断修復機構の一つである相同組み換え修復に異常が生じ、DNA切断を誘発するPARP蛋白質阻害剤に高い感受性を示すことが明らかにされ、臨床試験が進められている。

我々はこれまでにヒト肺がんにおける遺伝子異常の探索を行い、LKB1、CBPを肺がん抑制遺伝子として同定した。また、大腸がん、肺がん等では、CBP遺伝子と相同性の高いp300遺伝子の失活も報告されている。

これまでに、LKB1、CBP、p300がん抑制遺伝子産物がDNA切断部位へ集積することを見出していた。この結果は、我々が開発した染色体DNA切断に対する非相同末端結合(non-homologous end joining: NHEJ) アッセイで得られている知見と合致しており、これらのがん抑制遺伝子産物が、非相同末端結合に関与する可能性を示している。

そこで、これらの肺がん抑制遺伝子がDNA切断修復に果たす役割を解明し、DNA切断修復欠損を利用した新規分子標的治療法を開発することを目的として、本研究共同を進めた。本年度は、特にCBP、p300遺伝子に集中し、DNA切断修復への関与の検討を行った。

以下、研究活動状況の概要を記す。

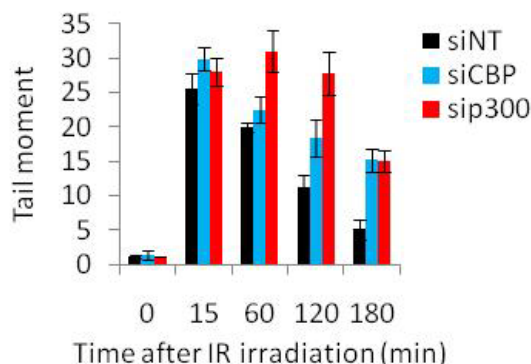
研究打ち合わせは、安井教授の来京の際(5/12)と神戸での学会参加時(12/7)に行った。また、その前後、e-mail を用いて、データの交換、discussion を適宜行った。

安井教授らにより、東北大学加齢医学研究所でDNA 損傷応答可視化システム(生細胞核局所照射装置:micro-laser irradiation imaging system)を用いたDNA 損傷実験が行われ、以下に示すクロマチンリモデリング蛋白質等のDNA 切断部位へ集積実験が行われた。また、国立がん研究センターでは非相同末端結合アッセイ、コメットアッセイ、クロマチン免疫沈降等を行った。

### [3] 成果

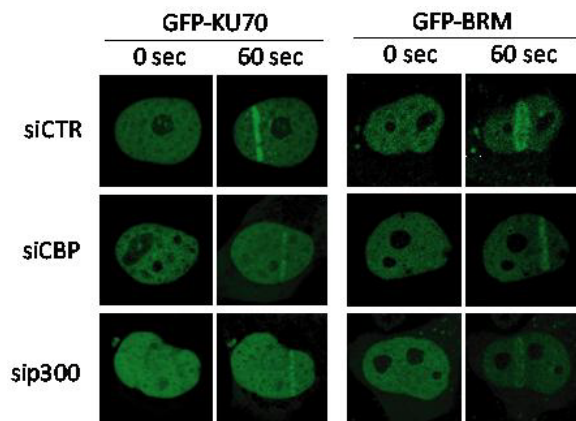
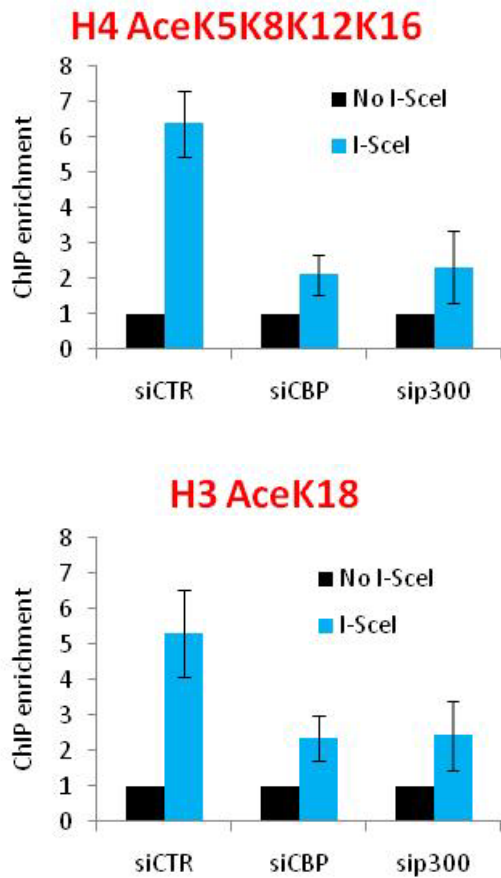
#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。まず第1に、コメットアッセイでCBP/p300 遺伝子がDNA 切断修復を正に制御することを示した。



第2にクロマチン免疫沈降アッセイ・micro-laser irradiation アッセイにより、CBP/p300蛋白質はDNA切断部位におけるヒストン H3/H4 アセチル化酵素として機能すること、またその結果、非相同末端結合の鍵分子であるKUタンパク質やSWI/SNFクロマチン複合体の触媒サブユニットであるBRMタンパク質

のDNA切断部位への集積が抑えられることを見出した。



なお、本成果は、東北大学加齢医学研究所：宇井彩子博士の協力のもとに得られた成果である。

以上の結果は、CBP/p300 タンパク質はDNA切断部位のヒストンH3/H4 アセチル化酵素として機能し、SWI/SNF クロマチンリモデリング因子と協力することにより、非相同末端結合を促していることを示している。また、ACF1 クロマチンリモデリング因子の非相同末端結合への関与についても明らかにした。

今後、CBP/p300 遺伝子異常を有するがん細胞がど

のようなDNA切断修復異常をもつのか、どのような治療法が有用であるかを追求していきたい。

### (3-2) 波及効果と発展性など

本研究成果を論文1,2として報告することにより、非相同末端結合アッセイを用いた国際及び国内共同研究が合計4件開始されている。本件を基盤とした研究者交流はますます盛んになると期待できる。

また、siRNAによるCBP/p300、ACF1蛋白質の機能阻害はがん細胞の放射線感受性を増加させることを見出しており、この結果は、ヒストン修飾・クロマチン再構成蛋白質群が、がんの放射線治療における新たな増感標的であることを示唆している。今後、放射線治療の効率化についても新規研究を進展させたい。

現在、安井教授らとヒストン修飾・クロマチン再構成蛋白質群とDNA切断修復の関連についての、より規模を広げたスクリーニングに着手している。今後の当該研究分野の新規鍵分子の同定が多いに見込まれる。

本共同研究に関して、東北大学加齢医学研究所：安井明、菅野新一郎、宇井彩子先生、および、その他本件に関与された同研究所の方々に、感謝の意を表します。

### [4] 成果資料

- (1) Ogiwara H, Ui A, Otsuka A, Satoh H, Yokomi I, Nakajima S, Yasui A, Yokota J, Kohno T\*. Histone acetylation by CBP and p300 at double strand break sites facilitates SWI/SNF chromatin remodeling and the recruitment of non-homologous end joining factors. *Oncogene* 2011, in press.
- (2) Lan L, Ui A, Nakajima S, Hatakeyama K, Hoshi M, Watanabe R, Janicki S, Ogiwara H, Kohno T, Kanno S, Yasui A\*. The ACF1 complex is required for DNA double-strand break repair in human cells. *Mol Cell* 2010; 40: 976-987.