

課題番号 10

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
旅費 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、BRG1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、BRG1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た。この結果は、我々が開発した染色体DNA切断に対する非同末端結合(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遺伝子の阻害剤の修復抑制活性、LKB1蛋白質

の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。

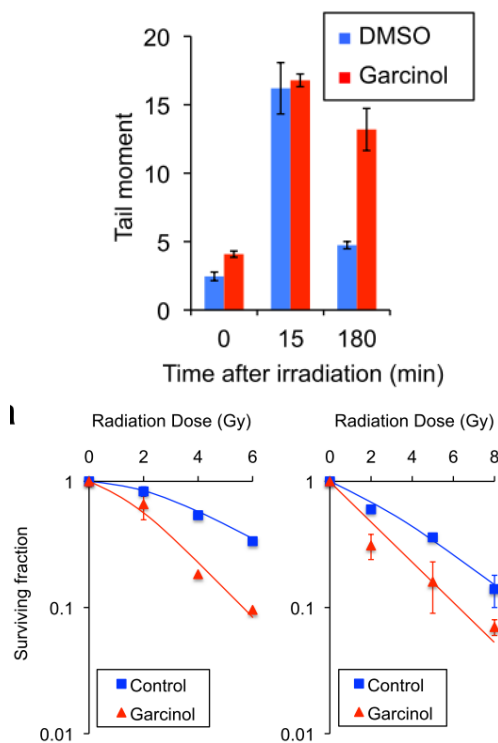
安井教授らにより、東北大学加齢医学研究所でDNA損傷応答可視化システム(生細胞核局所照射装置: micro-laser irradiation imaging system)を用いたDNA損傷実験が行われ、以下に示す結果が得られた。また、国立がん研究センターではコメットアッセイ、放射線増感実験等を行った。

[3] 成果

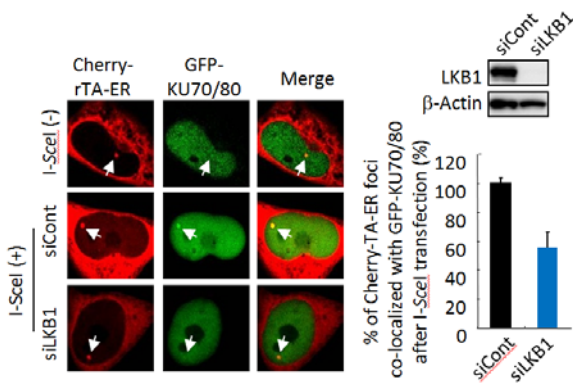
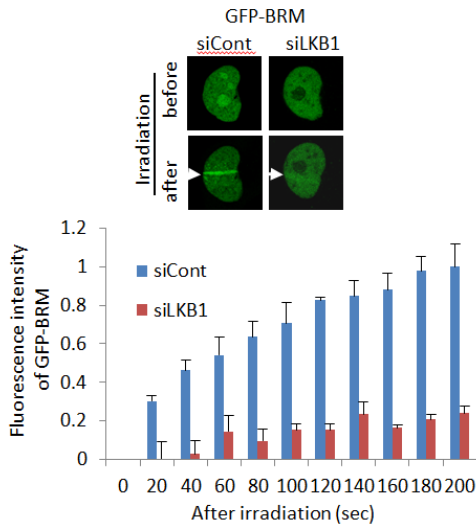
(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

第1に、コメットアッセイ(放射線 20Gy 照射)でCBP/p300蛋白質のヒストンアセチル化酵素活性の阻害剤であるガルシノール(マンゴスチンの根に含まれる天然成分)がDNA切断修復を阻害すること、がん細胞の放射線増感作用を持つことを示した。



第2にLKB1がSWI/SNFクロマチンリモデリングタンパク質及びKUタンパク質のDNA切断部位への集積を抑えることを見出した。この結果は、micro-radiation、I-SceI 制限酵素によるDN切断両者で観察された。



本結果は、CBP/p300 タンパク質の活性阻害物質が、放射線治療の増感剤として有望であることを示している。Garcinol はスパイスや民間薬として摂取され毒性が低いことがわかっており、臨床応用の可能性は高いと考えられる。これまでに、LKB1 タンパク質がDNA切断部位へ集積すること、非相同末端結合活性を抑えることを見出していたが、本結果により、LKB1 タンパク質は、DNA切断部位のクロマチンリモデリングを促進することにより、非相同末端結合修復を正に制御するという機構が示唆された。SWI/SNFクロマチンリモデリング因子との相互作用による非相同末端結合への関与が今回見出された。LKB1 タンパク質が、どのような分子機構でSWI/SNFクロマチンリモデリング因子の集積を促すのかをさらに追求していきたい。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究結果を論文(3)として報告することにより、非相同末端結合アッセイは世界14件機関で使用され、その成果が共同研究論文(2)等として出され始めている。本件を基盤としての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、LKB1 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から、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。

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) Oike T, Ogiwara H, Torikai K, Nakano T, Yokota J, Kohno T*. Garcinol, a histone acetyltransferase inhibitor, radiosensitizes cancer cells by inhibiting non-homologous end joining. *Int J Rad Oncol*Biol*Phys*, 2012, in press.
- (2) Li S, Kanno S, Watanabe R, Ogiwara H, Kohno T, Watanabe G, Yasui A, Lieber MR. PALF acts as both a single-stranded DNA endonuclease and a single-stranded DNA 3'-exonuclease and can participate in DNA end joining in a biochemical system. *J Biol Chem*. 2011, 286:36368-77.
- (3) 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, 30:2135-46.