

平成 26 年度 金沢大学がん進展制御研究所 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究
研究課題		ERCC1 の高発現に起因するシスプラチン耐性化の機序に関する研究
研究代表者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授・松永司
研究分担者	所属・職名・氏名	金沢大学医薬保健研究域薬学系・助教・若杉光生
受入担当教員	職名・氏名	教授・平尾敦
【研究目的】	DNA 傷害性抗がん剤による治療において、がん細胞の DNA 傷害応答反応をモジュレートできれば奏功性の向上が期待できる。最近、我々は化合物ライブラリースクリーニングによってヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair; NER) 反応を阻害する低分子化合物 A6 を見つけ、シスプラチンとの併用によりがん細胞の致死効果を増強させる結果を得た。また、この化合物は NER 必須因子の一つである ERCC1 の分解誘導を引き起こし、これが NER 阻害の機序であることを明らかにした。本研究ではこの化合物の作用機序を究明し、ERCC1 の高発現に起因するシスプラチン耐性化メカニズムの解明に寄与するとともに、耐性がんの治療に向けた本化合物の応用に関して基礎データを得ることを目的とする。	
【研究内容・成果】	① ERCC1 の分解誘導メカニズムの解明 これまでの解析で、化合物 A6 による ERCC1 の分解誘導はプロテアソーム阻害剤 MG-132 で抑制されることがわかっていたが、今回、実際に ERCC1 のポリユビキチン化体を検出し、ERCC1 の分解自身がユビキチン・プロテアソーム依存的であることが示唆された。また、がん進展研究所の薬剤ライブラリーから、キナーゼおよびホスファターゼの阻害剤ライブラリーの供与を受け、A6 の NER 阻害活性に及ぼす影響を検討した。その結果、キナーゼ阻害剤の 1 種において A6 による NER 阻害を抑制する作用が認められた。一方で、これらの阻害剤ライブラリーの単独処理による NER 反応への影響も検討したところ、キナーゼ阻害剤から 5 種、ホスファターゼ阻害剤から 3 種において部分的な反応遅延が観察された。これらの阻害剤について、市販品等入手して再現性も含めてさらに検討を進める予定である。 ② ERCC1 の高発現に起因するシスプラチン耐性化がん細胞に対する増感作用の検討 ERCC1 を高発現するシスプラチン抵抗性卵巣がん細胞を米国 Fox Chase Cancer Center から入手し、A6 処理後の ERCC1 の細胞内レベルを測定したところ、これまでに調べたがん細胞と同様に、ERCC1 の顕著な減少が観察され、このタイプの耐性がんの治療に有用である可能性が示された。 ③ 幹細胞への影響を検討するための関連技術の習得 骨髓から造血幹細胞および造血前駆細胞を分離する技術の教授を受けて習得した。	
【成果等】	【主な論文発表】 Wakasugi, M., Sasaki, T., Matsumoto, M., Nagaoka, M., Inoue, K., Inobe, M., Horibata, K., Tanaka, K. and Matsunaga, T. (2014). Nucleotide excision repair-dependent DNA double-strand break formation and ATM signaling activation in mammalian quiescent cells., J. Biol. Chem., 289, 28730-28737. Enkhtuya, R., Sato, T., Wakasugi, M., Tuvshintugs, B., Miyata, H., Sakurai, T., Matsunaga, T. and Yoshioka, K. (2014). The scaffold protein JLP plays a key role in regulating ultraviolet B-induced apoptosis in mice., Genes Cells, 19, 350-358. Zhao, X., Nogawa, A., Matsunaga, T., Takegami, T., Nakagawa, H. and Ishigaki, Y. (2014). Proteasome inhibitors and knockdown of SMG1 cause accumulation of Upf1 and Upf2 in human cells., Int. J. Oncol., 44, 222-228. 【学会発表】 松永司、斎藤臣雄、長田裕之、遠藤良夫：シスプラチン抵抗性関連因子 ERCC1 を分解誘導する新規低分子化合物の同定、第 18 回日本がん分子標的治療学会学術集会、平成 26 年 6 月 25 - 27 日、仙台。 高森千枝、宮崎幸太郎、西永真理、大澤琢郎、若杉光生、松永司：DNA 修復因子 ERCC1-XPF の安定性と細胞内局在性を決定する要因の解析、日本薬学会第 135 年会、平成 27 年 3 月 25 - 28 日、神戸。 【その他特筆事項】 特になし	