

平成29年2月

矢内正晶 学位論文審査要旨

主査 藤原 義之
副主査 清水 英治
同 井岸 正

主論文

DNA-PK inhibition by NU7441 enhances chemosensitivity to topoisomerase inhibitor in non-small cell lung carcinoma cells by blocking DNA damage repair

(NU7441によるDNA-PK阻害は非小細胞肺癌細胞において、DNA損傷修復を阻害することでトポイソメラーゼ阻害薬への化学感受性を増強する)

(著者：矢内正晶、牧野晴彦、平曷琮、武田賢一、田中那津美、阪本智宏、山口耕介、小谷昌広、山崎章、井岸正、清水英治)

平成29年 Yonago Acta Medica 60巻 9頁～15頁

参考論文

1. A novel point-of-care system for high-speed real-time polymerase chain reaction testing for epidermal growth factor receptor mutations in bronchial lavage fluids after transbronchial biopsy in patients with non-small cell lung cancer

(非小細胞肺癌患者におけるポイント・オブ・ケア検査としての経気管支肺生検後洗浄液検体中の上皮成長因子受容体遺伝子変異検索のための新規高速PCR法)

(著者：阪本智宏、小谷昌広、高田美也子、千酌浩樹、中本成紀、西井(伊藤)静香、上田康仁、泉大樹、牧野晴彦、唐下泰一、武田賢一、山崎章、矢内正晶、田中那津美、井岸正、清水英治)

平成27年 International Journal of Oncology 46巻 1473頁～1480頁

学 位 論 文 要 旨

DNA-PK inhibition by NU7441 enhances chemosensitivity to topoisomerase inhibitor in non-small cell lung carcinoma cells by blocking DNA damage repair

(NU7441によるDNA-PK阻害は非小細胞肺癌細胞において、DNA損傷修復を阻害することでトポイソメラーゼ阻害薬への化学感受性を増強する)

DNA2本鎖損傷は細胞にとって最も脅威となるDNA損傷であり、放射線や抗癌剤が抗腫瘍効果を示す要因の1つと考えられている。腫瘍細胞は、これらの治療によって生じたDNA2本鎖損傷を修復することで治療抵抗性を示し、その主要な修復経路である非相同末端結合(NHEJ)経路においてDNA-PKcsの活性化が重要な役割を担っていることが知られている。近年、様々な悪性腫瘍において、特異的なDNA-PKcs阻害薬であるNU7441が腫瘍細胞に対する放射線の感受性を増強するという報告が散見されているが、抗癌剤との併用については、ほとんど知られていない。本研究では、非小細胞肺癌細胞において、抗癌剤とDNA-PKcs阻害薬であるNU7441の併用効果とその機序について検討した。

方 法

細胞株は、非小細胞肺癌細胞であるA549細胞を用いて検討を行った。NU7441と抗癌剤の併用効果は、Cell Counting Kit-8を用いて細胞増殖抑制を測定し、アイソログラム解析によって評価した。DNA2本鎖損傷は、53BP1を用いて免疫蛍光染色で測定した。アポトーシスは、Annexin V apoptosis kitを用いて、フローサイトメトリーで測定した。DNA-PKcsの活性化は、pDNA-PKcs(S2056)蛋白の発現をウエスタンブロット解析で評価した。

結 果

NU7441とアムルビシン、イリノテカンといったトポイソメラーゼ阻害薬との併用では相乗効果を認めた。NU7441によって、トポイソメラーゼ阻害薬により惹起される53BP1 fociが増加し、アポトーシスもより誘導されるようになった。さらに、NU7441はトポイソメラーゼ阻害薬によって引き起こされたpDNA-PKcs(S2056)の発現を抑制した。しかしながら、微小管重合阻害薬であるパクリタキセルでは、pDNA-PKcs(S2056)の発現がみられず、NU7441との併用効果は相加効果を認めるのみであった。

考 察

DNA2本鎖損傷における主要な修復経路であるNHEJ経路において、DNA-PKcsは非常に重要な役割を担っており、DNA2本鎖損傷修復にはDNA-PKcsの活性化が必要となる。そのため、DNA-PKcsのリン酸化を阻害することで、DNA損傷修復ができず、アポトーシスが誘導される。そのため、DNA-PKcs阻害薬であるNU7441とDNA2本鎖損傷を惹起するトポイソメラーゼ阻害薬の併用で相乗効果が得られた。一方、DNA損傷に関与しない微小管重合阻害薬であるパクリタキセルとNU7441との併用では相加効果を認めるのみであった。

実際に、NU7441を併用することでトポイソメラーゼ阻害薬により惹起されたDNA2本鎖損傷が増加しており、修復遅延が起こっていると考えられる。また、NU7441を併用することで、トポイソメラーゼ阻害薬はアポトーシスをより誘導することが明らかになった。イリノテカンとはトポイソメラーゼ I 阻害薬であり、DNA1本鎖損傷を起こし、そこから複製の過程でDNA2本鎖損傷に至る。そのため、初めからDNA2本鎖損傷を起こすトポイソメラーゼ II 阻害薬であるアムルビシンと比較して、DNA2本鎖損傷、アポトーシスが誘導されるまでに時間差がみられた。

本研究は、非小細胞肺癌細胞において、NU7441とトポイソメラーゼ阻害薬の併用で相乗効果を明らかにした初めての研究である。近年、進行期の固形癌や血液腫瘍においてDNA-PKcs阻害を用いた臨床試験が行われており、その有効性が示されてきている。今後は、本研究の結果に基づき、NU7441とトポイソメラーゼ阻害薬の併用療法の効果をみるため、さらなる前臨床研究および臨床研究を行っていく必要がある。

結 論

DNA-PKcs阻害薬であるNU7441は、非小細胞肺癌細胞において、DNA損傷修復を阻害することで、トポイソメラーゼ阻害薬に対する抗癌剤感受性を増強した。NU7441とトポイソメラーゼ阻害薬の併用療法は、非小細胞肺癌における新たな治療選択肢となる可能性が示唆される。