

Schlafen 11がリボヌクレオチド還元酵素阻害剤の薬剤感受性を増強する機序解明

慶應義塾大学大学院 政策・メディア研究科 政策・メディア専攻

修士課程2年 高橋佑歌

1. 研究背景

リボヌクレオチド還元酵素 (RNR)はヌクレオシド三リン酸 (NDP)の還元を担うタンパク質であり、DNA鎖の材料となるデオキシリボヌクレオシド三リン酸 (dNTP)の合成に必須である。この作用を阻害するRNR阻害剤は、複製を急速に止め、複製ストレス(複製異常)を惹起するので抗がん剤として作用し得る。しかし現時点では臨床使用可能な特異性の高いRNR阻害剤は存在せず、いくつかの製薬企業がRNR阻害剤の開発を進めている。Schlafen11 (SLFN11)は、抗がん剤投与によって複製ストレスが誘導されると、複製を永続的に停止させて細胞死を誘導することがここ近年で明らかになっている。そのため、SLFN11は複製ストレスを惹起するRNR阻害剤に対しても、効果予測バイオマーカーとなり得ると考えられる。実際、NCI-60などのがん細胞データベースを用いた解析によってもRNR阻害剤の感受性とSLFN11発現量の相関が報告されているが、バイオリジカルな研究結果は不足している。よって、本研究ではSLFN11がRNR阻害剤感受性に及ぼす影響および感受性増強の作用機序の解明を目的とする。

2. 本研究の成果

① SLFN11はRNR阻害剤の感受性を増強する

SLFN11を高発現するCCRF-CEM株と同株から作成したSLFN11-KO株を用いてRNR阻害剤投与72時間後に細胞生存アッセイを行った結果、親株で有意にRNR阻害剤の薬剤感受性が高くなることを示した。他3ペアの細胞株を用いた実験によっても、同様の結果が再現された。

② RNR阻害剤投与による複製ストレス応答はSLFN11発現の有無にかかわらず引き起こされる

①と同様の親株/SLFN11-KO株を用いてRNR阻害剤投与によるDNA複製ストレスを検討したところ、RNR阻害剤投与2、4時間後に、どちらの細胞株でも複製ストレス発生応答としてChk1のリン酸化が誘導された。したがって、RNR阻害剤による複製ストレスはSLFN11の発現に関係なく生じることが示された。

③ SLFN11はRNR阻害剤投与後にクロマチンにリクルートされる

RNR阻害剤投与後の細胞内でのSLFN11の集積を検討したところ、SLFN11はRNR阻害剤投与4時間後時点でクロマチンにリクルートされた。

④ SLFN11はRNR阻害剤による長期の複製停止に必須である

続いて、フローサイトメトリーを用いた細胞周期解析によって、RNR阻害剤投与24時間後までの細胞周期への影響を検討した。薬剤投与直後(2時間後)には親株、SLFN11-KO株の両方で複製が停止していた一方で、薬剤投与24時間後には親株では複製が停止し続けていたが、SLFN11-KO株では時間経過に伴って細胞周期の進行が再開していた。したがって、RNR阻害剤投与による長期の複製停止にはSLFN11が必須であると考えられる。

⑤ RNR阻害剤投与によるアポトーシスにはSLFN11の発現が必須である

SLFN11が直接的に細胞死を誘導する要因としてアポトーシスが誘導される可能性を考え、薬剤投与直後から8時間後までアポトーシスシグナルの経時的変化を測定した。SLFN11-KO株では薬剤投与8時間後までほとんどアポトーシスのシグナルが見られなかったのに対して、親株ではRNR阻害剤投与後4時間以降にアポトーシスシグナルが有意に誘導されることを示した。さらに、薬剤投与0, 2, 4, 8, 24時間後にアポトーシスのマーカーであるcleaved-PARPおよびcleaved-Caspase3の検出をウエスタンブロッティングによって行ったところ、親株でのみRNR阻害剤投与4時間後以降のサンプルでこれらのバンドが検出された。これらの結果から、RNR阻害剤投与によるアポトーシスの誘導には、SLFN11が必須であることが示唆された。

※本研究は国際論文誌への投稿を予定しているため、詳細な図表を含む報告は割愛させていただきます。

3. 研究の意義

RNR阻害剤は、これまでにSLFN11以外の効果予測バイオマーカー候補が見つかっておらず、今後臨床で使用し得る特異性の高いRNR阻害剤が開発された場合、本研究の成果は臨床でSLFN11を効果予測バイオマーカーとして使用するための重要な知見となる。効果予測バイオマーカーの対応づけがなされた薬剤は適応患者の絞り込みができることから、本研究はがんの効率的な治療法選択に貢献できる。