

クロマチンのダイナミックな動きを抑えてがんを治す

-クロマチン創薬の可能性を提示-

概要

DNA 修復は、内因性あるいは外因性のストレスによって生じる DNA の傷を治し、ゲノムの安定性維持にはなくてはならない生体防御システムの一つです。この DNA 修復機構の破綻は、がんや神経変性疾患などの疾病を招くことがあります。しかし DNA 修復は、正常細胞だけのものではなく、がん細胞の生育においても重要です。最近では、がん細胞の修復機構を阻害してがんを死滅させるというコンセプトでの抗がん剤が、開発されています。

ADP-リボシル化酵素 PARP-1 は、DNA 修復酵素の一つですが、細胞内での働きは、DNA 修復のみならず転写や複製など細胞核内の DNA 代謝全般に関与している蛋白質です。PARP-1 の ADP-リボシル化活性の阻害剤（商品名：Olaparib）は、卵巣がんや神経膠細胞腫などに対してがん抑制効果を認め、その作用機序は、がんの DNA 修復機能を抑制することによると考えられています。しかし、転写、複製にも関与する PARP-1 の阻害剤が、がんの修復反応をターゲットとしているはっきりとした根拠は、諸説あるもののはっきりとは提示されておりました。

今回、DNA 損傷応答に関与する TIP60 ヒストンアセチル化酵素によるクロマチン構成蛋白質の一つであるヒストン H2AX のアセチル化が、PARP-1 の ADP-リボシル化活性を高めることを見出しました。さらに抗がん剤である PARP-1 インヒビター、Olaparib が、ヒストン H2AX を介した DNA 損傷応答シグナルを抑制することを見出しました。これらの知見は、クロマチンを介した DNA 修復反応の促進に TIP60 と PARP-1 との相互制御（ポジティブフィードバック制御）が重要な働きをしていることを示唆していると共に、抗がん剤 Olaparib のターゲットが、DNA 修復反応、特にその反応を司るクロマチンであることを明確に提示したことになります。

1. 背景

我々、哺乳類の DNA は、大腸菌などの下等生物とは異なり、ヒストンという蛋白質に巻き付いた状態で細胞内に存在しています。このヒストンと DNA との複合体をヌクレオソームと呼び、その集合体がクロマチンです。ヒストンは、ヌクレオソーム構造を取った DNA が損傷を受けた時、損傷を受けた DNA に DNA 修復酵素がアクセス上で障壁になっていると考えられてきました。しかし、我々は、TIP60 によってアセチル化された H2AX が、DNA 損傷領域のクロマチンから放出されて DNA 損傷応答シグナル因子と結合して、DNA 損傷局所でのストレス応答シグナルの活性化を促すことを明らかにしました。この結果は、ヒストンは、DNA 修復反応に対して単なるバリアーではなく、DNA 損傷応答因子として、DNA 修復反応を調節する働きがあることを示しています(当研究室からの報告、*Mol Cell Biol.* 2007, *Mol Cell Biol.* 2015)。

ヒストンの化学修飾は、エピジェネティクスの担い手であり、DNA 損傷領域においても様々なヒストンの化学修飾が報告されています。その役割は多彩で、DNA 損傷領域のクロマチン構造を変化させて DNA 修復因子が、DNA 損傷部位に留まり易くすることや、DNA 損傷を感知する蛋白質の働きを助け、DNA 損傷に対する SOS シグナルの増幅を調節する、チューナーとしての働きもあります。今回、我々が、着目しているヒストン H2AX は、DNA 損傷が生じた時にアセチル化やリン酸化の修飾を受けることが知られています。H2AX のアセチル化は、H2AX の損傷を受けた DNA 周辺のクロマチンからシグナル

因子のように放出させるのに寄与し、H2AX のリン酸化は、こうした H2AX の動きには関与せず、DNA 修復因子が、DNA 損傷部位に留まり易くすることに関与しています。興味深いことに、これら DNA 損傷によって促される H2AX のアセチル化やリン酸化は、細胞の種類によってその促され方が異なることが、井倉毅放射線生物研究センター准教授らの研究から明らかになっています(当研究室からの報告、*Radiat Environ Biophys* , 2015)。このことは、DNA 損傷を受けた時、その反応は、細胞ごとに異なることを示しています。今回、我々は、TIP60 ヒストンアセチル化酵素によって施されるヒストン H2AX のアセチル化が、DNA 修復酵素、PARP-1 のポリ ADP-リボシル化活性を促進させることを見出しました。この知見と H2AX のアセチル化が、細胞によってその施され方が異なることを考え合わせれば、ポリ ADP-リボシル化活性を阻害する抗がん剤、Olaparib の効能も、細胞によって異なることが示唆されます。我々の研究から抗がん剤、Olaparib の効きやすさを見定める研究が、分子レベルで可能になることが期待できます。

2. 研究手法・成果

我々は、細胞内の蛋白質を生理的な状態で複合体として精製する独自の方法を確立しています。このプロテオミクス法により DNA 修復酵素、PARP-1 蛋白質が TIP60 と相互作用をすることを見出しました。また、PARP-1 蛋白質が TIP60 と同様、ヒストン蛋白質をクロマチンからダイナミックに出し入れするために働くことを、ライブイメージングを用いて明らかにしました。また、抗がん剤である Olaparib は PARP-1 の阻害剤として知られていますが、この Olaparib を投与することでもヒストン蛋白質の動きが悪くなることを見出しました。

3. 波及効果

Olaparib は卵巣がん、乳がん、神経膠細胞腫などに非常に効果的な抗がん剤ですが、私たちの研究成果は、Olaparib が、DNA 損傷を受けた際の、クロマチン構造を変える働きがあることを強く示しています。この成果は DNA 修復において、クロマチンのダイナミックな動きが重要な働きをすることを示しているだけでなく、Olaparib と同様の効果を持つ抗がん剤の探索、すなわち『クロマチン創薬』が、今後は重要となっていくことも示しています。また、Olaparib の効果が見られないがん細胞も存在しますが、我々の知見をもとに、今後は、これらのがん細胞のクロマチン状態を効きやすい状態に変える薬の開発も期待できます。

4. 今後の予定

私たちは今回の報告以外にもヒストン蛋白質の化学修飾の程度が細胞種ごとに異なることも定量質量分析という手法により示してきました。これは DNA 損傷を受けたゲノム DNA の箇所でのクロマチンの動きが細胞種ごと、身体組織ごとに異なることを示しています。今後は様々な細胞種毎のクロマチン状態をさらに定量することで、細胞の持つ DNA 損傷をはじめとする応答の特性を見定める『分子社会学』と我々が名付けた手法で見定めていきます。また、蛋白質の動的な振る舞いといった新しい視点の研究も併せることで、これまでとは異なる方式での細胞の個性の理解を目指します。これらの成果により、例えば、ある種の抗がん剤の効きやすいがん細胞と効きにくいがん細胞を区別することも可能になるでしょう。また、細胞の持つ『分子社会構造』を自在に制御することが可能となれば、細胞の持つ特性を変換することでがん治療の効率を高めるだけでなく、様々な疾

患治療にも役立てるはずで。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Coordinated regulation of TIP60 and PARP-1 in damaged chromatin dynamics.

著者 : Ikura, M., Furuya, K., Fukuto, A., Matsuda, R., Adachi, J., Matsuda, T., Kakizuka, A. & *Ikura, T.

雑誌名 : Molecular and Cellular Biology 36 巻, 10 号 掲載予定。

<用語解説>

ヒストン : 細胞内の染色体DNAを巻きつかせている蛋白質。また、アセチル化をはじめとする様々な化学修飾を受けることも知られている。

H2AX : ヒストン蛋白質には幾つかの種類が見られる。H2AXはDNA損傷箇所で機能することが知られているヒストン。一般的にはヒストンは DNAに常に巻きつかれた状態でしか存在しないと思われてきたが、我々のグループではDNA損傷の箇所ではH2AXと呼ばれるヒストンがアセチル化と呼ばれる化学修飾を受け、ダイナミックにDNAから放出されたり取り込まれたりすることを示してきた。

ヌクレオソーム : ヒストンとヒストンに巻き付いたDNAのこと。

クロマチン : ヒストンに巻き付いたDNAが細胞内に収納されている状態。ヒストンのパッキング状態が緩くなることで様々なDNA上の反応が促進される一方、密になることでDNA上の反応を阻害することもある。これらのクロマチンの状態はヒストンの化学修飾により変化する。

TIP60 : ヒストンH2AXをアセチル化する酵素。TIP60が欠損するとH2AXはDNA損傷部位ではダイナミックな挙動を示さなくなる。

PARP-1 : ポリADPリボシル化酵素。様々な蛋白質にポリADPリボシル化と呼ばれる化学修飾を転移する酵素。DNA修復や遺伝子の転写制御など様々なDNA上の反応に関わることが知られている。

Olaparib : PARP-1の阻害剤。BRCA遺伝子変異陽性のがんに対して効果を示す抗がん剤。BRCA遺伝子変異陽性のがんは相同組み換えと呼ばれるDNA損傷修復の効率が下がっている。これまではPARP-1は別のDNA修復の経路が阻害し、『合成致死』という方式で抗がん剤として作用すると考えられてきた。