

平成 31 年 2 月 8 日

東北大学加齢医学研究所

DNA 損傷修復能の新しい測定法を開発

PARP 阻害薬などの抗がん剤の有効性を予測可能に

【発表のポイント】

- DNA 修復経路の 1 つで抗がん剤感受性と大きく関連する相同組換え修復 (HR) の活性の新たな測定法を開発しました。
- 本測定法は、ゲノム編集技術に用いられる CRISPR/Cas9 システムを用いることで、ゲノム内の任意の座位で HR 活性を測定することができます。
- 従来法では測定出来なかった、遺伝子が発現していないゲノム領域での HR 活性の測定も可能になりました。
- 本測定法による HR 活性の測定結果が抗がん剤感受性と相関することが判明し、正確な抗がん剤の有効性予測が可能になると期待されます。

【概要】

DNA に生じた傷を治す DNA 修復機構は細胞にとって非常に重要です。そのうち、相同組換え修復 (HR) は二本鎖が切れてしまった DNA を修復する際に働きます。HR 活性が低下するとがん化に繋がる一方、HR 活性の低下したがん細胞は DNA 損傷に弱く、抗がん剤が効きやすくなります。従来の方法では HR 活性を正確に定量できず、抗がん剤感受性の予測は困難でした。今回、東北大学加齢医学研究所 腫瘍生物学分野の千葉奈津子教授、吉野優樹助教、東北医科薬科大学の渡部剛講師らの研究グループは、HR 活性の新たな測定法を開発し、本法が抗がん剤有効性をより正確に予測できることを明らかにしました。

本研究成果は 2019 年 2 月 7 日 Scientific Reports 誌に掲載されました。

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金の支援を受けて行われました。

【詳細な説明】

DNA は様々な原因で傷つきます。細胞は DNA の傷を治す複数の機能を持っています。DNA の二本鎖が同時に切れてしまう DNA 二本鎖切断は最も重篤な傷の一つで、切れた二本鎖を正確につなぎ合わせるために相同組換え修復 (HR) 機構が働きます。HR に関わる分子の異常は、遺伝性乳がん・卵巣がん症候群などの遺伝性腫瘍を引き起こします。

一方、HR 活性に異常があるがん細胞は、DNA 損傷に弱く、DNA 損傷を引き起こす抗がん薬や放射線治療の効果が高いことが知られています。したがって、細胞の持つ HR 活性を測定することで、発がんのリスクや治療の有効性を予測することが可能です。

しかし、従来用いられてきた HR 活性の測定法には幾つかの問題がありました。一つは特定の細胞でしか測定ができなかった点です。また、測定のための人工遺伝子配列をゲノムに組み込んで測定を行うため、細胞が元々持っている遺伝子の修復活性を評価しているわけではありませんでした。さらに、測定値は半定量的で、抗がん剤の有効性との相関が十分ではありませんでした。

そこで、東北大学加齢医学研究所 腫瘍生物学分野の千葉奈津子教授、吉野優樹助教、東北医科薬科大学の渡部剛講師らの研究グループは、任意の細胞で、任意のゲノム内の部位の HR 活性を定量的に測定できる方法 ASHRA (Assay for Site-Specific HR Activity) を開発しました (図1)。この方法はゲノム内の任意の部位に DNA 二本鎖切断を作成するため、ゲノム編集技術に用いられる CRISPR/Cas9 システムを応用しました。細胞に Cas9 と切断に必要なガイド RNA を発現するベクターを入れると、ゲノム内の標的部位を特異的に切断できます。切断部位近くの配列と検出のためのマーカー配列を含むドナーベクターを同時に導入すると、HR によって DNA 二本鎖切断が修復されるときにマーカー配列がゲノムに取り込まれます。取り込まれたマーカー配列の量を測定することで、細胞の HR 活性が評価できます。

ASHRA を用いることで、遺伝性乳がん・卵巣がん症候群の原因遺伝子の一つである BRCA1 の変異体の機能障害が診断できることを確認しました (図2)。また、従来法では HR 活性と抗がん剤感受性が一致しない変異体がありましたが、本法の測定結果では、抗がん剤感受性が一致しました。よって、本法は従来法よりも正確に薬剤感受性を予測できると考えられました。

また ASHRA は、これまで測定が不可能であった転写が行われていないゲノム領域での測定も可能です。これにより、従来 HR に必須とされていた BRCA1 が転写活性の高い領域での HR にのみ関与し、転写が行われていない領域では別の機構が存在する可能性が示されました。

今後、患者さんの組織検体の直接測定法などに改良することで、抗がん剤の効果を治療前に予測して治療する、テーラーメイド医療の開発が期待できます。

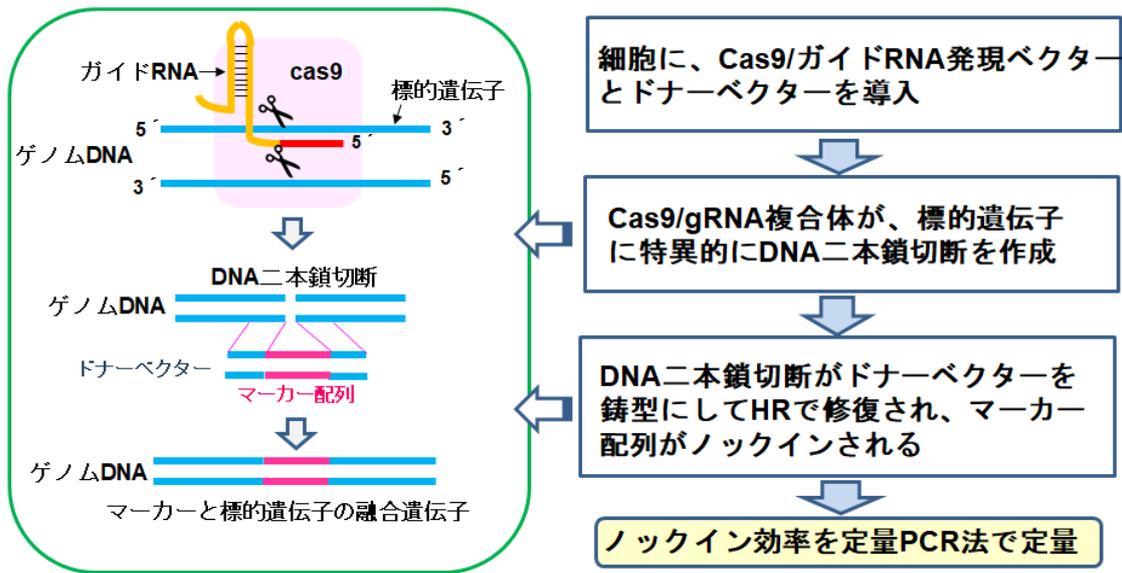


図1：ASHRAの概略

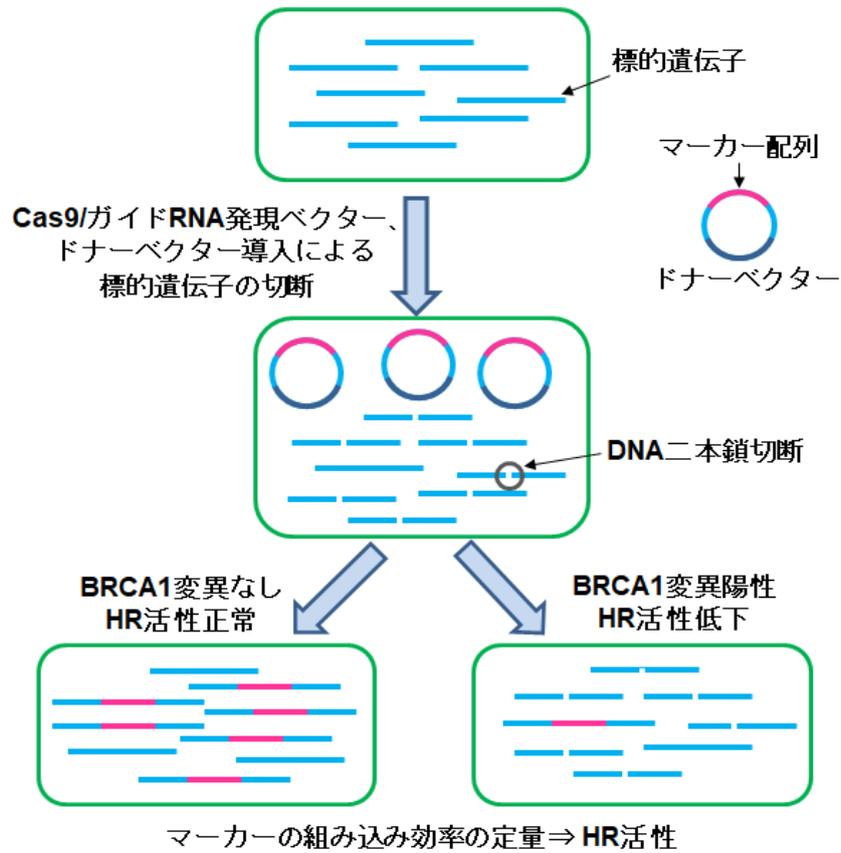


図2 ASHRAによるHR機能障害の検出

【用語説明】

- ・相同組換え修復： DNA 損傷修復機構の一つ。DNA 二本鎖切断や DNA 鎖間架橋などの DNA 損傷を修復する。もう一つの DNA 二本鎖切断修復経路である非相同末端再結合よりも正確に修復でき、修復後に変異を残しにくい重要な修復経路である。
- ・CRISPR/Cas9 システム： 細菌で発見された防御機構である。Cas9 は DNA を切断する酵素であり、gRNA と呼ばれる RNA を案内として、gRNA と相補的な（結合できる）DNA を認識し、部位特異的に切断する。近年、遺伝子編集などに用いられている。

【発表論文】

掲載誌： Scientific Reports

DOI: 10.1038/s41598-018-38311-x

題目： Evaluation of site-specific homologous recombination activity of BRCA1 by direct quantitation of gene editing efficiency.

著者： Yuki Yoshino*, Shino Endo*, Zhenghao Chen, Huicheng Qi, Gou Watanabe, Natsuko Chiba. (*co-first author)

【問い合わせ先】

東北大学加齢医学研究所 腫瘍生物学分野
教授 千葉 奈津子 (ちば なつこ)

電話 022-717-8477

E-mail: natsuko.chiba.c7@tohoku.ac.jp