

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－デンマーク研究交流）

1. 研究課題名：「定量的プロテオミクスを用いた DNA 損傷応答シグナル伝達経路の包括的解析～副作用を最小限に抑えた新しいがん化学療法の開発に向けて」
2. 研究期間：平成21年9月～平成25年3月
3. 支援額： 総額 14,400,000 円(直接経費 13,455,000 円； 間接経費 945,000 円)
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	正井 久雄	東京都医学総合研究所	センター長
研究者	立石 智	熊本大学	講師
研究者	吉沢 直子	東京都医学総合研究所	研究員
研究者	伊藤さゆり	東京都医学総合研究所	博士研究員
研究者	山崎 聡志	東京都医学総合研究所	博士研究員
参加研究者 のべ 16名			

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Jiri Bartek	Department of Cell Cycle and Cancer, Institute of Cancer Biology, Danish Cancer Society	グループ長教授
研究者	Jiri Lukas	Centre for Genotoxic Stress Research, Danish Cancer Society	センター長教授
研究者	Masayuki Yamada (山田正之)	Department of Cell Cycle and Cancer Biology Danish Cancer Society	博士研究員
研究者	Myunghee Lee	Department of Cell Cycle and Cancer, Institute of Cancer Biology, Danish Cancer Society	技術補佐員
参加研究者 のべ 4 名			

5. 研究・交流の目的

本研究交流は、2種類（Cdc7 キナーゼ及び Rad18 ユビキチンリガーゼ）のタンパク質に着目して、DNA 損傷、DNA 複製ストレス応答シグナル伝達経路の解析を行ない、その結果に基づきこれらのタンパク質を標的とした新規制がん戦略、治療薬の開発を最終的な目標とする。

具体的には、日本側は、遺伝子欠損細胞/ノックダウン細胞およびマウスを用いた実験を行い、上記タンパク質およびその基質タンパク質を標的とした制がん効果の細胞レベル、個体レベルでの検討と、その分子機序の解明を分担する。デンマーク側は、解析に使用する細胞株の作製とそれを用いたプロテオーム解析を行い、新規基質タンパク質の同定及び機能解析を分担する。両国の研究チームが密接に協力しあい、相互補完的に取り組むことで、新しい抗がん剤治療の開発につながる成果の取得を目指す。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

Cdc7 キナーゼと Rad18 ユブキチンリガーゼを標的としてこれらが制がんの標的となる可能性を探った。Cdc7 阻害は p53+/-で異なる細胞内反応を誘起し細胞死を引き起こす事、Cdc7 阻害は S 期に染色体上に「傷」を残すが、それによる細胞死は主に次の M 期に生じること、Cdc7 の部分阻害と低濃度の抗がん剤はがん細胞の増殖阻害老化を誘導する事を見出した。これらの新知見に基づき、既知の制がん剤あるいは細胞周期制御因子阻害化合物との併用による Cdc7 を標的とする、より副作用の少ない新規の制がん戦略を提唱した。又 Rad18 の欠損は複製ストレスを介して老化を誘導し、それにより p53 や Chk2 欠損により誘導される発がんを抑制する事を見出した(図 1)。これらの発見は、全く新しいメカニズムに基づく制がん戦略開発の重要な基盤を提供した。

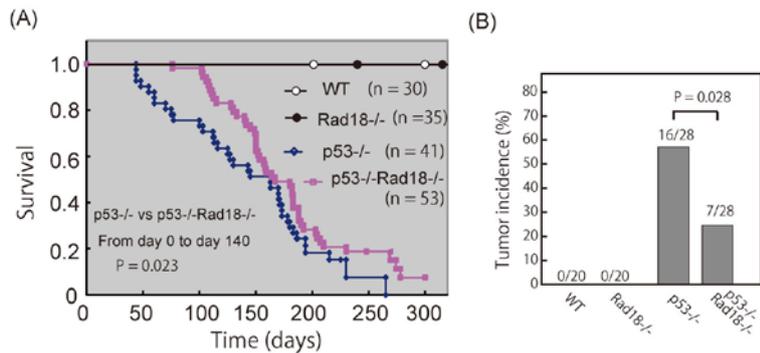


図 1 (A) 野生型 (WT)、Rad18 欠損、p53 欠損マウスおよび Rad18 p53 二重欠損マウスの生存率の比較 (B) 野生型 (WT)、Rad18 欠損、p53 欠損マウスおよび Rad18 p53 二重欠損マウスの発がん率の比較

## 6-2 人的交流の成果

デンマーク側の主要な研究分担者の山田博士とは密接に連絡を行い、研究期間中に何度か訪日していただき、討議および共同研究実験を日本側研究室で行なった。Bartek・Lukas 博士とはメール、電話などで常に連絡をとり情報交換を行なった。又、デンマーク側で用いている技術・試料・細胞、又日本側で作製した試料や情報あるいは新規技法(タンパク質増産精製技法)を常時交換しつつ研究を遂行した。日本側分担者の立石博士は期間中に数度デンマーク側を訪問し、研究結果について討議を行なった。この過程で DNA 複製の過程で生じるストレスが緩和されることにより、発がんが進行する過程をデンマーク側から学び、Rad18 遺伝子の欠損は、複製ストレスによる老化誘導により発がんの進行を抑制することができることを実証することができた。デンマーク側からの概念的 input がこれらの発見、検証に重要な役割を果たした点で今回の極めて重要な人的交流の成果であった。今回の成果は両グループの協力によるものであり、単独での研究ではなし得ない相乗的効果が生まれた。最も重要な点は、世界でも最先端のがん研究を行なう Bartek・Lukas 研究室との協力により、知的、概念的に極めて有用な情報、刺激を得ることができ、これが本申請研究の進展の重要な Driving force となるとともに、人材の育成にも貢献したことである。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	<ul style="list-style-type: none"> <li>・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年</li> <li>・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等</li> </ul>	備考
論文	Ito, S., Ishii, A., Kakusho, N., Taniyama, C., Yamazaki, S., Sakaue-Sawano, A., Miyawaki, A., and Masai, H. (2012) "Mechanism of cancer cell death induced by depletion of an essential replication regulator." PLoS One, 7, e36372.	
論文	Yamazaki, S., Ishii, A., Kanoh, Y., Oda, M., Nishito, Y. and Masai, H. (2011) "Rif1 protein is a key regulator of the genome-wide DNA replication timing in human cells." EMBO J. 31, 3167-3177	
論文	Gudjonsson T, Altmeyer M, Savic V, Toledo L, Dinant C, Grøfte M, Bartkova J, Poulsen M, Oka Y, Bekker-Jensen S, Mailand N, Neumann B, Heriche JK, Shearer R, Saunders D, Bartek J, Lukas J, Lukas C. (2012) TRIP12 and UBR5 suppress spreading of chromatin ubiquitylation at damaged chromosomes. Cell 150, 697-709.	
論文	Lukas C, Savic V, Bekker-Jensen S, Doil C, Neumann B, Sølvhøj Pedersen R, Grøfte M, Chan KL, Hickson ID, Bartek J, Lukas J. (2011) 53BP1 nuclear bodies form around DNA lesions generated by mitotic transmission of chromosomes under replication stress. Nat Cell Biol. 13, 243-253.	
論文	Yanagihara, H., Kobayashi, J., Tateishi, S., Kato, A., Matsuura, S., Tauchi, H., Yamada, K., Takezawa, J., Sugawara, K., Masutani, C., Hanaoka, F., Weemaes, C. M., Mori, T., Komatsu, K. (2011) NBS1 recruits RAD18 via a RAD6-like domain and regulates Pol η-dependent translesion DNA synthesis. Mol. Cell 43, 788-797	