

乳癌関連分子 BRCA2の DNA損傷修復能の制御メカニズムの解明と 新たな治療法の開発

A novel mechanism regulating BRCA2 function in DNA damage repair and its potential application for cancer therapy

* 細谷紀子

乳癌は女性において最も罹患頻度の高い癌の一つであり、その発症機構に基づいた診断・治療法を確立することは極めて重要である。BRCA2は、家族性乳癌の原因遺伝子産物であり、DNA二本鎖切断に対する相同組換え修復において中心的な役割を果たすRAD51分子と直接結合してDNAの修復に関与する。近年、BRCA変異癌に対して、DNA一本鎖切断の修復に関わるpoly(ADP-ribose) polymerase(PARP)に対する阻害剤が有効であることが報告され、合成致死を利用した新しい癌の治療戦略として注目されている。我々は最近、乳癌を含む様々な癌で異所性に発現するSYCP3という分子がBRCA2の機能を抑制することを発見した。このことは、BRCAの変異の無いSYCP3発現癌においてもPARP阻害剤が有効である可能性を示しており、癌のDNA損傷修復能の特性に着目した新しい治療戦略として期待される。

Breast cancer is one of the most common cancers among women. It is important to develop diagnostic methods and therapeutic strategies based on the pathogenetic mechanisms of the disease. BRCA2 is the protein product of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*, and is involved in DNA damage repair by binding directly to the RAD51 protein, the central player of the homologous recombination repair of DNA double-strand breaks. Recently, inhibitors of the single-strand break repair protein PARP have been shown to be useful for the treatment of cancer with *BRCA* mutations, representing the most striking application of the synthetic lethal approach for cancer treatment. We have recently found that BRCA2 is functionally inactivated by SYCP3, which is not expressed in normal mitotic cells but ectopically expressed in various sporadic cancer cells including breast cancer cells. It would be possible that application of PARP inhibitors would be extended to a broader range of cancers, including SYCP3-expressing cancers with no detected *BRCA* mutations. Taking advantage of such cancer-specific abnormalities in the DNA damage repair machinery would be a promising therapeutic approach for future cancer therapy.

Key words: breast cancer susceptibility gene 2, synaptonemal complex protein 3, PARP inhibitor, synthetic lethality, cancer therapy

* Noriko Hosoya

東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 放射線分子医学部門

Laboratory of Molecular Radiology, Center for Disease Biology and Integrative Medicine, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo

1. はじめに

乳癌は、女性において最も罹患頻度の高い癌の1つであり、日本でも、食生活の欧米化や晩婚化・少子化などのライフスタイルの変化に伴い、その患者数と死亡数は年々増加傾向にある。ゆえに、現代女性の健康を守る上で、乳癌の発症機構を解明し、それに基づく有効な診断・治療・予防法を確立することは極めて重要な課題である。

乳癌の中に、同一家系内に多発する家族性乳癌が存在し、全乳癌の約5%を占める。1995年に単離された癌抑制遺伝子 *BRCA2* は、その前年に単離された *BRCA1* と並んで、家族性乳癌の代表的な原因遺伝子である¹⁾。家族性乳癌の50～60%が *BRCA1*、もしくは、*BRCA2* の生殖細胞変異により発生すると推測されている。一方、散発性乳癌における *BRCA1*、*BRCA2* の体細胞変異は稀であることが報告されているが、遺伝子変異によらないエピジェネティックな原因によるこれらの分子の機能低下も重要な役割を果たすことが示唆されている。

BRCA2 蛋白質は、*RAD51* 分子と直接結合してDNA二本鎖切断の主要な修復経路の1つである相同組換え修復に直接的に関与する²⁾。*BRCA2* は3,418アミノ酸から成る巨大な分子であり、蛋白質間相互作用領域を複数持つ。*BRCA2* は、*RAD51* 以外にも *PALB2*、*BCCIP*、*DSS1* など多数の分子と様々な領域において相互作用をすることが報告されているが、*BRCA2* の発癌における役割を理解するためには、*BRCA2* と相互作用をする数々の分子が *BRCA2* の機能をどのように制御しているのかを明らかにする必要がある。

我々は最近、癌細胞において異所性に発現する *SYCP3* という分子が、*BRCA2* と複合体を形成してその機能を抑制することによってDNA二本鎖切断修復を阻害することを発見し³⁾、引き続き、*SYCP3* がどのような分子機序で *BRCA2* のDNA二本鎖切断修復機能を阻害するのかについて検討を進めてきた。本稿では、*SYCP3* の発現によるゲノム安定性の破綻の機構と、*SYCP3* を発現する

様々な癌における新しい治療戦略の構築への応用の可能性について述べる。

2. 減数分裂関連分子 *SYCP3* は癌において異所性に発現する

癌治療を有効に行うためには、癌細胞に特異的に存在する核酸代謝情報の特性を捉えることが重要である。近年、生殖細胞に特異的に発現すると考えられてきた分子の中に、体細胞癌においても異所性に発現するものがあることが報告されている⁴⁾。そのような分子群の1つである *SYCP3* は、減数分裂における相同染色体の対合や交叉・組換えにおいて必須であるシナプトネマ複合体の構成蛋白質の1つである⁵⁾。*SYCP3* は、正常の体細胞では発現しないが、低メチル化により乳癌を含む様々な癌の細胞において異所性に発現する³⁾。本研究では、*SYCP3* の異所性の発現が体細胞に及ぼす生物学的影響について検討を行った。

3. *SYCP3* は *BRCA2* と複合体を形成してその相同組換え修復能を抑制し、ゲノムの安定性を破綻させる

正常上皮細胞への *SYCP3* の強制発現や、*SYCP3* 発現癌細胞における *SYCP3* 発現抑制による細胞の表現型の変化を解析したところ、*SYCP3* の発現により、染色体数の異常の頻度が高くなり、放射線やDNA架橋剤であるシスプラチンに対する感受性が亢進することが分かった³⁾。放射線とシスプラチンの両方の感受性の亢進が見られたことから、*SYCP3* の発現によりDNA二本鎖切断に対する相同組換え修復機能が低下していることが予測された。実際に、DR-GFPアッセイでは、*SYCP3* の発現によって相同組換え修復の効率が低下することが示され、また、*SYCP3* 発現により相同組換え修復分子 *RAD51* の放射線照射後のフォーカス形成細胞の割合が低下することも示された。さらに、免疫染色法により *BRCA2* と *SYCP3* が共局在をすることが、また、免疫沈降・ウエスタンブロット法により *BRCA2* が *SYCP3* と複合体を形成することが分かった³⁾。現在、*BRCA2* における

SYCP3との相互作用部位の同定を進めている。相互作用部位は複数存在し、また、RAD51分子と結合するBRCA2の中央領域のBRCリピート領域とは異なる領域に存在するようである。SYCP3発現により、DNA二本鎖切断が生じた後のBRCA2とRAD51分子の結合が抑制されることも示された³⁾。

以上のことから、SYCP3は、体細胞ではBRCA2と複合体を形成して相同組換え修復を抑制

することにより、染色体の数の異常の頻度の増加や放射線やDNA架橋剤などのDNA損傷に対する感受性の亢進を誘導して、ゲノムの安定性の破綻を来すと考えられた(図1)。

4. 癌治療への応用

近年、BRCA1またはBRCA2に変異のある癌に対する分子標的治療として、DNA一本鎖切断修復

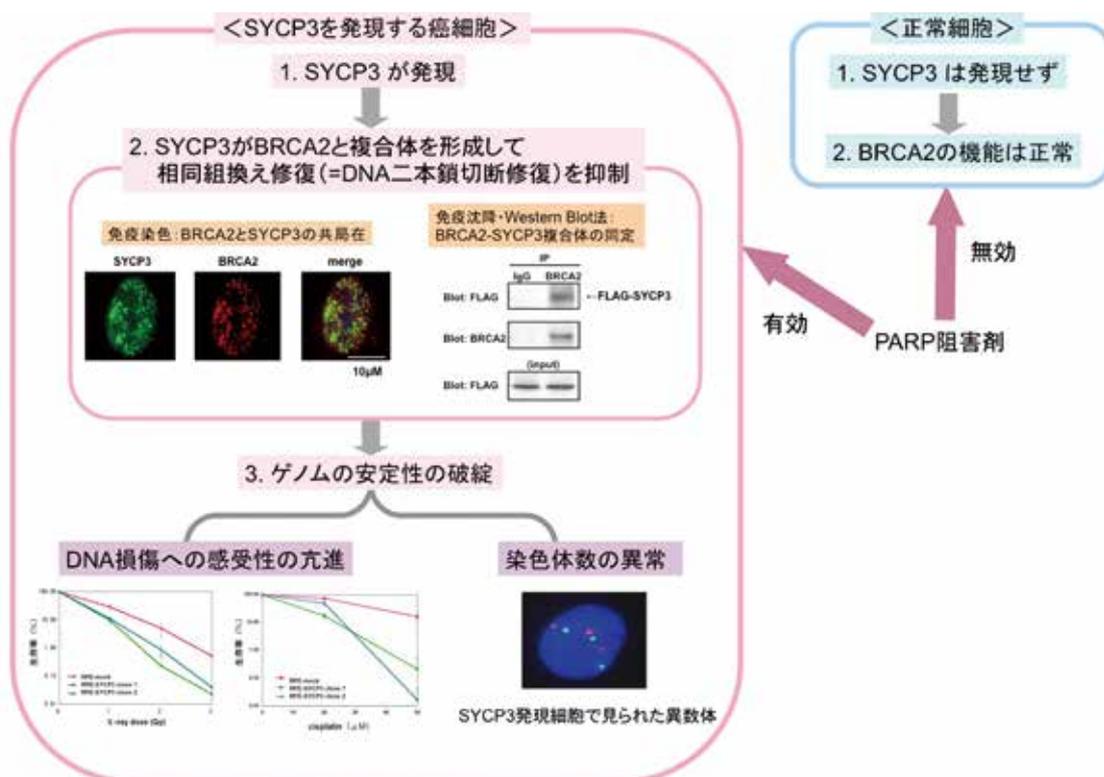


図1 SYCP3によるBRCA2の相同組換え修復の抑制と治療応用

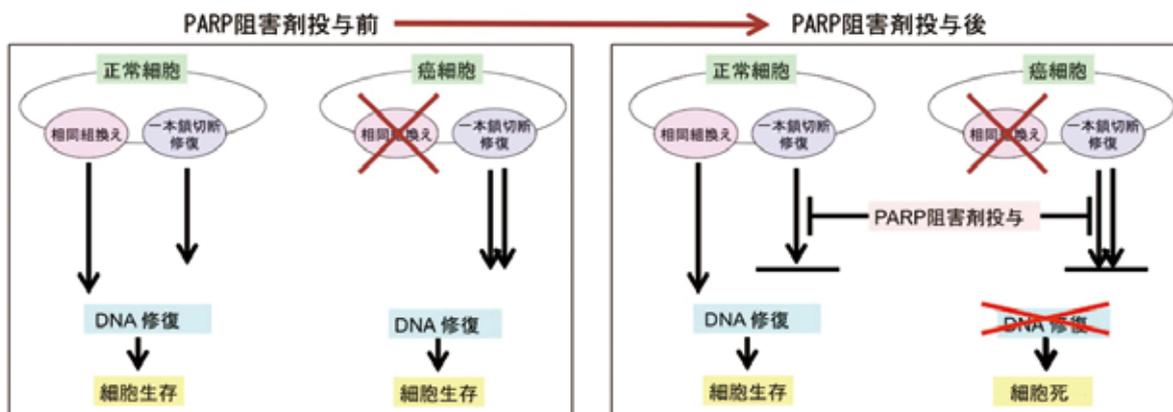


図2 合成致死を利用した癌治療の概念図(相同組換え修復欠損癌に対する一本鎖切断修復経路の阻害を例に)

に関与する poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) の阻害剤の有効性が実験的に証明され^{6) 7)}、臨床試験も多数進められてきた^{8) 9)}。DNA 一本鎖切断修復に関与する PARP を阻害すると、一本鎖切断が修復されずに二本鎖切断へと変換される。正常の細胞ではこれが相同組換えによって修復されるため、細胞死は起こらない。しかし、*BRCA1* または *BRCA2* の変異を有する癌細胞では、相同組換え修復が行えないため細胞死に至る。このように、ある生体機能の発揮において互いに補完し合う2つの経路があり、どちらか一方の経路の阻害では致死に至らないが、両方の経路が阻害されると致死に至ることを「合成致死」という¹⁰⁾ (図2)。

この理論を応用すると、SYCP3 を発現した癌細胞においては、*BRCA2* の機能が低下しているため、PARP 阻害剤単剤、もしくは、PARP 阻害剤と DNA 二本鎖切断を引き起こす DNA 損傷性の治療の併用が有効であることが予測される。実際に、我々は、SYCP3 を発現する細胞が PARP 阻害剤に対して極めて著しい高感受性を示すこと、また、PARP 阻害剤をシスプラチンと併用することにより、さらに高い感受性を示すことを明らかにした³⁾。

6. 考察と今後の展望

この研究成果は、減数分裂関連分子 SYCP3 の体細胞発現によって引き起こされる DNA 損傷修復機構の抑制を介した新しいゲノム安定性破綻の機構を提唱するものであり、また、PARP 阻害剤の適応を *BRCA1* や *BRCA2* の変異のない SYCP3 発現陽性の癌に対しても拡大できる可能性を示唆するものである。SYCP3 が乳癌に限らず様々な癌で発現していることから、この治療戦略は幅広い癌において応用できることが期待される。SYCP3 による *BRCA2* 機能の抑制メカニズムについては、さらなる検討が必要である。

謝辞

研究助成を賜りました女性健康科学研究会に深く感謝申し上げます。また、共同研究者である東

京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター放射線分子医学部門の宮川清教授にも心より感謝申し上げます。

[文献]

- 1) Wooster R, Bignell G, Lancaster J, et al. Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*, Nature, 1995; 378: 789-792.
- 2) Gudmundsdottir K, Ashworth A: The roles of *BRCA1* and *BRCA2* and associated proteins in the maintenance of genomic stability, Oncogene, 2006; 25: 5864-5874.
- 3) Hosoya N, Okajima M, Kinomura A, et al: Synaptonemal complex protein SYCP3 impairs mitotic recombination by interfering with *BRCA2*, EMBO Rep, 2012; 13: 44-51.
- 4) Simpson AJ, Caballero OL, Jungbluth A, Chen YT, Old LJ: Cancer/testis antigens, gametogenesis and cancer, Nat Rev Cancer, 2005; 5: 615-625.
- 5) Page SL, Hawley RS: The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex, Annu Rev Cell Dev Biol, 2004; 20: 525-558.
- 6) Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, et al: Specific killing of *BRCA2*-deficient tumours with inhibitors of poly (ADP-ribose) polymerase, Nature, 2005; 434: 913-917.
- 7) Farmer H, McCabe N, Lord CJ, et al: Targeting the DNA repair defect in *BRCA* mutant cells as a therapeutic strategy, Nature, 2005; 434: 917-921.
- 8) Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al: Inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase in tumors from *BRCA* mutation carriers. N Engl J Med, 2009; 361: 123-134.
- 9) Hosoya N, Miyagawa K: Targeting the DNA damage response in cancer therapy. Cancer Sci, 2014 Jan 31. doi: 10.1111/cas.12366.
- 10) 細谷紀子、宮川清: DNA 損傷修復とがん治療, がん分子標的療法, 2010; 8: 26-35.