

## 研究の分類・属性

基礎系

## 研究の概要

日本では毎年7万人以上が肺癌によって死亡しており、更にその死亡率、罹患率は増加傾向にある。また、非小細胞肺癌に対する既存の抗がん剤の効果は未だ不十分であり、その原因に関してはよくわかっていなかった。最近、申請者らは非小細胞肺癌の約20%で解毒酵素の過剰発現が起こり、がん細胞が抗がん剤抵抗性を獲得していることを見出した。そこで、肺癌における抗がん剤効果の減弱化に直接関与している解毒酵素の過剰発現の作用機序の解明を行っている。さらに、解毒酵素の過剰発現を抑制することで、抗がん剤の効果を亢進させる薬剤の探索を行っている。

## 研究経費

5,000 千円

## 研究班の組織

太田 力 国立がん研究センター研究所・ユニット長

抗がん剤の効果を亢進させる薬剤の探索

## 研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標)：

研究目的：日本では毎年7万人以上が肺癌によって死亡しており、更にその死亡率、罹患率は増加傾向にある。また、非小細胞肺癌に対する既存の抗がん剤の効果は未だ不十分であり、その原因に関してはよくわかっていなかった。申請者らは非小細胞肺癌の約20%で解毒酵素の転写活性化因子であるNrf2の異常活性化が起こり、がん細胞は解毒酵素の過剰発現を行うことで抗がん剤抵抗性を獲得していることを見出した。最近、胃癌、大腸癌、肝癌、乳癌、前立腺癌、白血病等でもNrf2の異常活性化が報告され、多くのがんでNRF2の異常活性化が抗がん剤抵抗性に関与している可能性が出てきた。また、NRF2遺伝子の欠失マウス (KOマウス) は正常に成育し子孫も残せることが報告されており、Nrf2の阻害による重篤な副作用が少ないことが予想される。そこで、本研究は、肺癌における抗がん剤効果の減弱化に直接関与している解毒酵素を過剰発現させている転写因子Nrf2の作用機序を解明し、Nrf2の転写活性化能を抑制する阻害物質を探索することを目的とした。

到達目標：種々の阻害物質ライブラリーを用いて Nrf2 の転写活性化能を阻害する物質を探索し、Nrf2 の転写活性化能を抑制する阻害物質を得ること、および、転写因子 Nrf2 の細胞核内での作用機序を解明し、Nrf2 の転写活性化阻害を引き起こす作用点を見出すことを到達目標とした。

## 第1年次

### (到達目標)

1. Nrf2は細胞核内でMafGと結合しヘテロダイマーを形成し、転写活性化能を得ることが知られている。そこで、試験管内蛋白質相互作用阻害物質の探索システムを用いてNrf2とMafGとの結合を阻害する物質を得る。
2. Nrf2は細胞核内でMafGおよび他の因子相互作用することで転写活性化能を得ることが予想されている。そこで、Nrf2と相互作用する因子を探索するため、タグ付きのNrf2を恒常的に発現する細胞株を樹立する。

### (年次評価時点の実績要点)

1. 試験管内蛋白質相互作用阻害物質の探索システムを用いてNrf2とMafGとの結合を阻害する物質の探索を種々の阻害物質ライブラリーから行い、阻害物質の候補サンプルを得た。
2. Nrf2と相互作用する因子を見出すため、タグ付きのNrf2を過剰発現する細胞株の樹立を進めている。

## 研究成果と考察

### 第1年次評価時点

1. Nrf2とMafGとの結合を阻害する物質探索の研究: 肺がん細胞で異常活性化した転写因子Nrf2は細胞核内でMafGとヘテロダイマーを形成し、第2相解毒酵素をコードする遺伝子のプロモーター領域に存在するARE配列[TGAG/CNNNGC]に結合し、第2相解毒酵素遺伝子のmRNA量を過剰に合成することが知られていた。そこで、Nrf2とMafGをin vitroで構築し、この系を用いてNrf2とMafGとの結合を阻害する物質の探索を種々の阻害物質ライブラリーから行い、阻害物質候補サンプル数種類を得た。今後、Nrf2活性化肺がん細胞株において、Nrf2の転写活性化能を阻害できるのか検証を行う予定である。
2. タグ付きのNrf2を恒常的に発現する細胞株樹立の研究: N末端にFlagタグを付けた野生型Nrf2および核内局在型Nrf2(変異型Nrf2)を発現するベクターを構築した。これらの発現ベクターをNrf2活性化がん細胞株に導入し、G418耐性株のコロニーが形成されはじめていることを確認している。今後、これらG418耐性株のコロニーをスケールアップし、抗体を用いてタグ付きのNrf2を恒常的に発現する細胞株を選択し、Nrf2と細胞内で相互作用する因子の精製に利用する予定である。

## 倫理面への配慮

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等の実施に関する基本指針に従い実施した。