

論 文 要 旨

区分	甲	論文提出者	大 林 佑 子
論文題目	Suppression of TopBP1 function increases the efficacy of chemotherapeutic treatments by enhancing the induction of apoptosis		
<p style="text-align: center;">【研究目的】</p> <p>DNA 損傷応答は、DNA 修復あるいはアポトーシスを誘導し、ゲノムの恒常性を維持するための重要な機構である。そのため抗癌剤による化学療法においては、DNA 損傷応答の活性化が細胞の薬剤感受性と密接に関わることが知られている。本研究では、DNA 損傷応答で機能する中心的なタンパクキナーゼである ATR の制御因子 TopBP1 に着目し、TopBP1 が化学療法剤の感受性を亢進する標的となりうるか解析することを目的とした。</p> <p style="text-align: center;">【材料および方法】</p> <p>口腔扁平上皮癌細胞株 SAS、ヒト子宮頸癌由来細胞株 HeLa MR を用いて、siRNA を導入し TopBP1 遺伝子発現抑制細胞を作成した。これらの細胞に対する、シスプラチンおよびアルキル化剤(MNU)処理後のアポトーシス誘導の活性化に関してはフローサイトメトリーによる解析、また DNA 損傷応答関連タンパク質の活性化および DNA 損傷の蓄積についてはウエスタンブロット法にて解析した。さらに、ATR 阻害剤(VE-821)および ATM 阻害剤(KU-60019)を用いた。</p> <p style="text-align: center;">【結果】</p> <p>作成した TopBP1 ノックダウン細胞に対しシスプラチンおよび MNU 処理を行ったところ、薬剤感受性が亢進し、細胞死誘導の指標である subG1 細胞の割合、ならびに Caspase9 の活性化、PARP1 の切断が増加した。この時、DNA 損傷応答の活性化の指標となる CHK1 のリン酸化が有意に低下していたが、ATR, ATM, CHK2 のリン酸化には明らかな変化を認めなかった。この条件下において、1 本鎖 DNA 結合タンパク質 RPA2 の Ser8 部位のリン酸化が強く亢進していたが、H2AX のリン酸化には明らかな変化はなかった。ATR/CHK1 経路の抑制が薬剤感受性を亢進することは ATR 阻害剤を用いた実験においても確認できた。</p> <p style="text-align: center;">【考察】</p> <p>癌細胞において TopBP1 の抑制がアポトーシス誘導を促進し、化学療法剤の感受性を上昇させることが示唆された。TopBP1 の抑制は CHK1 と細胞周期チェックポイントの活性化の低下を引き起こし、DNA 損傷で停止した複製フォークに一本鎖 DNA 領域を蓄積させ細胞死誘導を促進すると考えられた。</p> <p style="text-align: center;">【結論】</p> <p>TopBP1 が、癌細胞において化学療法に対する感受性の効果を促進させる治療戦略の標的となりうる可能性を見出した。</p>			