

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

平成 29 年 4 月 12 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 国立がん研究センター研究所  
職 名 主任研究員  
研究代表者 塩谷文章

下記のとおり平成28年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 16033 )

1. 共同研究課題名	複製ストレスが誘導する発がん・細胞老化における ATR キナーゼの作用機構			
2. 共同研究目的	ATR キナーゼによる特異的な基質タンパク・リン酸化を同定し、複製ストレスによって誘導される発がん、細胞老化モデルにおける機能を解析する。			
3. 共同研究期間	平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 塩谷文章	国立がん研究センター研究所	主任研究員	発がんストレスによる ATR 活性化機構と基質蛋白の解析	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所の共同研究担当教員	分野名	遺伝子情報	氏 名	山下孝之

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

#### 6. 共同研究計画

がん細胞の生存は、発がん遺伝子が誘導する複製ストレス(発がん性複製ストレス)への細胞応答系に依存している。したがって、この応答に関与する分子は腫瘍選択的な治療の標的として注目される。中でも ATR キナーゼの阻害剤は臨床治験が進行中であり期待が大きい。しかし、発がん性複製ストレスにおける ATR の作用機構には未解明の点が多い。そこで、申請者は、これを解明し、より効果的な治療標的を同定する目的で研究を行っており、以下の点において山下博士らと共同研究を計画している。

- ・ 山下博士らは、いくつかの発がん遺伝子の発現によって複製ストレスを誘導する実験系を確立している。また薬剤等によって複製ストレスを介して細胞老化を誘導する機構を解析している。そこで、申請者らがこれまでに見出した ATR の基質候補の機能をこれらの実験系において、解析する。
- ・ 山下博士らが研究している損傷乗り越えポリメラーゼと ATR の相互作用を解析する。
- ・ 前年度、申請者は DNA 複製を1分子レベルで解析する DNA ファイバー法を山下博士のグループより習得した。これを利用して、ATR シグナルが DNA 複製ダイナミクスに与える影響を解析する。

#### 7. 共同研究の成果

不死化ヒト肺上皮細胞に活性型 Ras とエストロゲン受容体のキメラ蛋白である ER-KrasG12V を安定的に発現する細胞株を作成した。この細胞株をエストロゲン類似化合物 4OHT で処理すると ER-KrasG12V 発現が誘導され、長期培養系において細胞の腫瘍化の指標のひとつである足場非依存的増殖能の獲得が観察された。この実験系において、山下博士のグループから習得した DNA ファイバー法を用いて複製フォーク進行速度を解析したところ、ER-KrasG12V 発現によって速度が顕著に低下することが確認された。また、この実験系で ATR が活性化されていることを見出した。また遺伝的背景の異なる肺腺がん細胞株において、ATR 阻害剤感受性試験を行ったところ、Ras 活性化細胞の増殖を抑制することを見出しており、現在 ATR の基質蛋白を解析中である。

#### 8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況

(本研究所の担当教員の氏名の記載, 又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお, 論文の場合は, 別刷りを1部提出して下さい。)