

【要約】

ATR inhibition synergizes with alkylating PI polyamide targeting *MYCN* to suppress DNA repair in *MYCN*-amplified neuroblastoma

(ATR 阻害は *MYCN* 増幅神経芽腫において DNA 修復を抑制することにより *MYCN* を標的とするアルキル化 PI ポリアミドと相乗効果を示す)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学専攻

(主任：筆宝義隆 教授)

頼笑疑

目的

MYCN 遺伝子の増幅は悪性神経芽腫の主要な発がん因子である。その撲滅を目的として我々が以前に開発した *MYCN* 選択的アルキル化ピロール-イミダゾールポリアミド化合物 (CCC-002) は、*MYCN* 増幅陽性神経芽腫細胞における DNA 損傷応答 (DDR) を著しく促進する。本研究では DDR 阻害剤である ATR 阻害剤が CCC-002 と相乗的に作用し、DNA 修復関連遺伝子群の発現抑制を介して抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。

方法

MYCN 増幅陽性神経芽腫細胞株を用いて、CCC-002 と複数の DDR 阻害剤との併用効果について検討した。細胞生存率および DNA 損傷の程度を調べることにより、薬剤の最適の組み合わせを絞り込んだ。この併用効果をさらに *in vivo* で検証するために、神経芽腫由来 SK-N-BE(2) 移植腫瘍モデルを構築し、腫瘍抑制効果について検討した。また、*MYCN* 遺伝子特異的な DNA 損傷および細胞死誘導に対する影響を *in vivo* FISH および IHC 染色により解析した。ATR の関与について明らかにするため、siRNA を用いたノックダウン実験を行った。さらに、マイ

クロアレイ解析および ChIP-qPCR 法を実施して、網羅的遺伝子発現解析および *MYCN* 遺伝子領域における DNA 損傷の蓄積の評価を行った。

結果・考察

DDR 阻害剤の中でも特に ATR 阻害剤が CCC-002 による DNA 損傷を増強し、抗腫瘍効果を示すことが明らかとなった。興味深いことに *MYCN* 増幅陽性神経芽腫細胞の中でも特に PARP 阻害剤に抵抗性を示す細胞において、ATR 阻害剤が CCC-002 との併用により効果的に細胞増殖を抑制した。網羅的な遺伝子発現解析から、CCC-002 と ATR 阻害剤の併用が DNA 損傷修復機構に関連する遺伝子発現を抑制することが明らかとなり、そのことが *MYCN* 遺伝子領域における DDR タンパク質蓄積の原因となることが示唆された。

結論

DDR 阻害剤のうち ATR 阻害剤が DNA 修復機構の抑制を介して *MYCN* 標的ポリアミドの抗腫瘍効果を増強することが明らかとなった。本研究の結果は、悪性神経芽腫において標的化が困難な増幅 *MYCN* 遺伝子に対する画期的な新規治療法開発につながるものと期待される。