

120	Olaparibの新規耐性因子の同定と耐性克服治療法の開発	佐々木 由香
-----	--------------------------------------	--------

【目的】 臨床承認薬 olaparib は、ポリ (ADP-リボース) 合成酵素 (PARP) を標的とした合成致死性抗がん薬として開発され、DNA 修復経路の一つである相同性組換え修復に関わる *BRCA1* または *BRCA2* に変異を有する乳がん、卵巣がん、膵がん等に対して特異的に細胞死を誘導することから、副作用の少ない抗がん薬として期待されている。しかしながら、olaparib の投与による olaparib 耐性の獲得は、現在治療上の大きな問題となっており、早期に olaparib 耐性獲得機構を明らかにし、耐性解消法を確立する必要がある。そこで本研究では、PARP 阻害薬耐性に寄与する新規因子を同定し、その耐性機構を明らかにすることを目的とした。

【方法】 これまでに、膵がん細胞株 MIA PaCa-2 において、CRISPR/Cas9 システムを用いて *BRCA1* ノックアウト (KO) 細胞株 (C1 細胞) を樹立し、C1 細胞株における olaparib の継続的な処理により、olaparib 耐性クローンとして C1/OLA 細胞株を単離した。本研究では、olaparib 処理した C1/OLA 細胞と親株である C1 細胞との比較により、RNA-seq 解析により網羅的な遺伝子発現を解析し、2 倍以上発現上昇が認められた遺伝子について pathway 解析を実施し、olaparib 耐性に寄与する細胞内経路を探索した。さらに、qRT-PCR による mRNA 発現レベルの解析、細胞内 NAD⁺量の測定などにより olaparib 耐性機序の解析を行った。

【結果】 Olaparib 処理した C1/OLA 細胞と C1 細胞において RNA-seq 解析および pathway 解析を行った結果、C1/OLA 細胞において NAD⁺代謝に関わる経路が活性化していることが明らかとなった。C1/OLA 細胞において、NAD⁺の生合成に関わる nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT) および nicotinamide nucleotide adenylyltransferase 2 (NMNAT2) の mRNA 発現は有意に上昇しており、さらに細胞内 NAD⁺レベルの上昇が認められた。C1 細胞においてニコチンアミド添加により細胞内 NAD⁺レベルの上昇を誘導した結果、ニコチンアミド存在下において、C1 細胞は PARP 阻害薬である olaparib と talazoparib に対する感受性を有意に低下させた。以上のことから、NAD⁺生合成経路の活性化に伴う細胞内 NAD⁺レベルの上昇が、PARP 阻害薬耐性を獲得する要因の一つになり得ることが示唆された。

NAD⁺生合成経路の活性化は olaparib 耐性を誘導する

