

**【目的】** 5-フルオロウラシル (5-FU) は、長年にわたり固形癌、特に消化器癌の治療において抗がん剤の第一選択として重要な位置を占めてきた。5-FU は Ataxiatelangiectasia-mutated and Rad3-related kinase (ATR) を介して、DNA 損傷応答において細胞周期チェックポイントと DNA 修復における主要な仲介役を果たす Chk1 を活性化することが報告されている。ATR は、主に replication protein A (RPA) におおわれた 1 本鎖 DNA において、ATR interacting protein (ATRIP) を介した安定な結合を通じて活性化される。Rad9 と Rad17 は、一本鎖 DNA を覆っている RPA による ATR と Chk1 の活性化の重要因子である。5-FU 感受性における Chk1 の役割については、ヒト細胞株 HeLa で siRNA を用いて Chk1 を阻害すると 5-FU による S 期チェックポイントが機能せず、DNA 合成がそのまま継続することで DNA 二重鎖切断の蓄積につながり、その結果 5-FU による細胞殺傷効果を亢進することが観察されている。本研究の目的は、ATR-Chk1 シグナル経路をターゲットとした癌細胞特異的な治療の開発とそのための 5-FU 系抗癌剤の効果を高める癌細胞特異的な経路を解明することである。

**【方法】** 1. ニワトリ B 細胞株 DT40 野生型を 5-FU 刺激し、その細胞内応答ウェスタンブロッティング、コロニーバイバルアッセイ、 $\gamma$ H2AX 蛍光免疫染色で評価する。2. Chk1 キナーゼ阻害薬である UCN-01 投与下での 5-FU 感受性、細胞応答を同様に評価する。3. ニワトリ B 細胞株 DT40 野生型に加えて *Rad9* 欠損細胞株、*Rad17* 欠損細胞株を 5-FU 刺激し、その感受性、細胞応答について上記と同様の評価を行う。

**【結果】** ATR-Chk1 経路を阻害することで 5-FU 感受性の増強を認めた。また、*Rad9*/*Rad17* 非依存的な Chk1 キナーゼ活性経路が存在し、それが 5-FU 感受性を規定する可能性が示唆された。

DNA 損傷と ATR-Chk1 経路の活性化

