

課題番号 72

ヒストン修飾制御遺伝子変異がんを対象にした 新規がん治療法の開発

[1] 組織

代表者：荻原 秀明
(国立がん研究センター研究所)

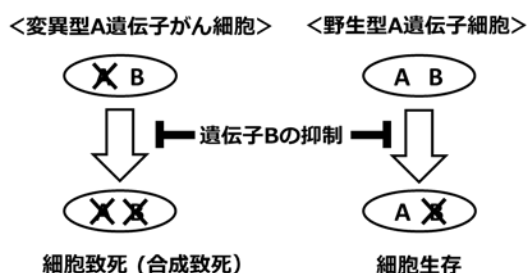
対応者：安井 明
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：佐々木 麻里子
(国立がん研究センター研究所)

研究費：物件費 15 万円

[2] 研究経過

がんの分子標的治療において、副作用を最小限にするためにがん細胞に特異的な効果を得ることが重要な課題である。それを可能にする新しい分子標的治療の戦略として、合成致死性を利用した分子標的治療法なのである。合成致死性とは、2つの遺伝子が同時に抑制されたときに細胞致死となる現象である(下図)。がん細胞の特徴である変異遺伝子 A に着目したとき、



遺伝子 A との合成致死遺伝子 B を見つけ出すことができれば、副作用の少ない治療が期待できる。申請者らは、エピジェネティクス関連遺伝子が様々ながんで 10-50% と非常に高頻度に変異・異常のあることに着目し、それらの遺伝子異常に基づいた新規治療法の開発に向けた研究を行ってきた。その中で、肺腺癌の 10% 程度の患者に遺伝子異常がある BRG1 (SMARCA4) 遺伝子に着目し、BRG1 との合成致死遺伝子として BRM を同定した (Oike, Ogiwara et al. *Cancer Research*, 2013)。さらに、肺がんや血液がんにおいて 10-30% の患者で機能喪失型遺伝子変異がある CBP (CREBBP) 遺伝子に着目し、CBP との合成致死遺伝子として p300 を同定した (Ogiwara et al. *Cancer Discovery*, 2016)。これらの研究において、

BRG1 変異がんに対しては BRM、p300 変異がんに対しては p300 が創薬標的であることを見出した。さらに現在 BRM および p300 の阻害薬の創薬開発を進めている。

そこで本研究では、様々ながんで高頻度に変異している遺伝子の中で、特にエピジェネティクス関連遺伝子に着目し、それらの遺伝子との合成致死遺伝子を探索することを目的として研究を行う。さらにそれらの合成致死性のメカニズムを解明するために、本共同研究において網羅的な遺伝子発現解析やプロテオミクス解析を駆使することで包括的に検討していく。最終的には“がん細胞特異的効果が期待できる合成致死性を利用した新規治療法への応用を目指し、個別化医療の開発への基盤としたい。

以下、研究活動状況の概要を記す。

本年度は、標的候補遺伝子との合成致死遺伝子の同定ヒストン修飾関連遺伝子 UTX に着目し、UTX 遺伝子ノックアウト (KO) 細胞株を樹立し、合成致死を示す標的薬 X を同定してきた。そこで、さらに UTX 欠損型細胞株において標的薬 X に選択性を示すかを検討した。また、UTX の相互作用因子との機能的関連から合成致死標的を同定するために、安井先生、菅野先生にプロテオミクス解析を依頼して、UTX との相互作用因子の解析を検討して頂いた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

これまでに CRISPR/Cas9 システムを用いて UTX-KO 細胞を樹立し、UTX-WT および UTX-KO 細胞を用いて、UTX-KO 細胞に選択的に致死性を示す化合物を探索した。独自で選定した分子標的薬ライブラリーを用いた化合物スクリーニングを行った結果、いくつかの候補標的薬を同定した。そこで、これらの候補標的薬について、UTX 欠損型細胞株への感受性試験を行った。その結果、標的薬 X は UTX 欠損細胞株へ選択性を示すことがわかった。そこで現在、標的 X 遺伝子をノックダウンしたときに UTX 欠損細胞株が合成致死性を示すかの検証を行っている。

また、菅野先生、安井先生との共同研究において、UTX との物理的相互作用する因子を同定するために、網羅

的相互作用因子探索を検討して頂いた。UTX 抗体を用いて内在タンパク質と相互作用するタンパク質の探索を行うために免疫沈降の条件検討を行って頂いた。また、N 端側にリコンビナントタンパク質のアフィニティーカラムによる解析によって N 端側に相互作用するタンパク質の探索を行うために GST プルダウン法による免疫沈降の条件検討を行って頂いた。これらについてプロテオミクス解析を行った結果、UTX との相互作用因子を複数同定した。現在、それらの候補因子と UTX との相互作用について、免疫沈降法と WB 法による再検証を行い、新規相互作用因子の同定を目指している。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、安井先生、菅野先生との共同研究を通してプロテオミクス解析から合成致死の関係を明らかにする新しい手法が確立されれば、今後の研究成果へのさらなる発展が期待される。

[4] 成果資料

なし