

ARID1A タンパク質の発現および機能に着目した新規子宮内 膜がん患者層別化法を用いたがん治療ターゲット候補の創出

[1] 組織

代表者：渡邊 怜子

(大阪大学蛋白質研究所
計算生物学研究室)

対応者：宇井 彩子

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費 13 万円

[2] 研究経過

(2-1) 研究目的・計画

ARID1A は、クロマチンリモデリング因子である SWI/SNF 複合体を構成するサブユニットの一つであり、がんにおいて高頻度に変異が報告されている。一方で、ARID1A 欠損が腫瘍に及ぼす影響は、がん種や進行段階によって異なることが知られており、その作用メカニズムを明らかにすることにより、細胞のがん化を抑制する新たながん治療薬の開発につながることが期待される。応募者はこれまでに、プロテオミクスとトランスクリプトミクスを統合することで、がん患者を ARID1A の機能的状態に基づいて層別化する手法を構築してきた。さらに、この手法により分類された患者群間で発現差を示す遺伝子群を同定した。検出された遺伝子群について機能的な関連性を解析した結果、これまで十分に知られていなかった免疫関連の機能変化が存在する可能性が示された。これまでに得られた *in silico* 解析の知見を *in vitro* 実験によって検証し、ARID1A 欠損がんに対する新たな治療標的の探索へと発展させたいと考えている。そこで、クロマチンリモデリングとがん化のメカニズムの研究を専門としている加齢医学研究所の宇井彩子准教授と連携し、*in vitro* 実験による検証ならびに候補因子の機能解析を推進する。受入教員である宇井准教授には、*in silico* 解析から得られた発現変動遺伝子の機能的意義を明らかにするため、以下の解析をご担当いただく予定である。1. siARID1A を用いて ARID1A タンパク質をノックダウンした細胞に対し、プロテオーム解

析および細胞内機能解析 2. 1 の解析結果と *in silico* 解析の結果を踏まえて絞り込んだ候補因子の特異的機能を検証するため、ChIP assay および ChIP-seq 解析 3. 候補因子のタンパク質間相互作用を評価するための質量分析を併用した共免疫沈降法 (Co-IP/MS) による解析を実施する。本共同研究を通じて、ARID1A 欠損がんを標的とする新規治療戦略の基盤を築き、将来的には新たながん治療薬の開発につなげることを目指す。

(2-2) 合わせ等の開催状況

本共同研究に関しては、年に数回ほど宇井准教授 と対面やオンラインで打ち合わせを行いながら進めてきた。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

本年度は、ARID1A タンパク質をノックダウンした 3 種類のがん細胞株のプロテオミクスデータに基づき、細胞状態の違いに応じた ARID1A 欠損の影響について検討を行った。まず、ARID1A ノックダウン細胞群と野生型細胞群との間で、統計学的手法を用いて差別的発現タンパク質を同定し、さらに Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) により生物学的機能の変動を解析した。その結果、これまでに実施してきた *in silico* 解析の結果と同様に、免疫関連機能の変動が認められた。患者組織由来のデータを基にした *in silico* 解析では、腫瘍細胞のみならず、免疫細胞を含む腫瘍微小環境を構成する多様な細胞群の影響が含まれる。一方、本研究で用いたがん細胞株由来の *in vitro* データにおいても同様の免疫関連機能の変動が認められたことから、これらの変化は腫瘍微小環境に依存した現象ではなく、少なくとも一部はがん細胞内在的な応答である可能性が示唆された。

次に、ARID1A ノックダウン後における細胞増殖および細胞死の程度を比較検討したところ、細胞株ごとに異なる応答が認められた。すなわち、ARID1A ノックダウン後も継続して増殖を示す細胞株が存在する一方で、細胞死が誘導される細胞株も認められた。これらの結果から、ARID1A 欠損はがん細胞における自

己免疫応答の誘導に関与する可能性があるものの、その応答は細胞の状態に応じて異なることが示唆された。

以上の知見を踏まえ、宇井准教授には、ARID1A ノックダウンがん細胞において、自己免疫関連因子の活性化および発現変化について、ウェスタンブロット法を用いた検証を進めていただく予定である。

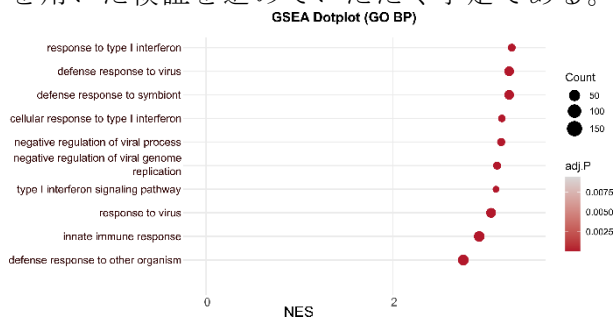


図 1. 細胞 B の ARID1A のノックダウン群と野生型群を用いた GSEA

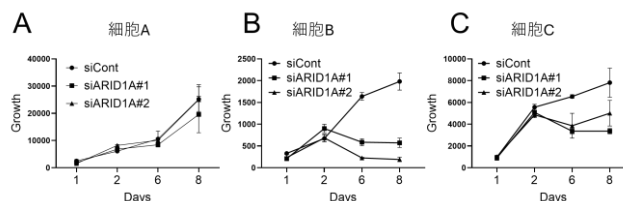


図 2.3 種類のがん細胞の ARID1A ノックダウン後の細胞数

(3-2) 波及効果と発展性など

ARID1A の欠損は、さまざまながん種において高頻度に認められることが報告されている。一方で、ARID1A 欠損ががん細胞内に引き起こす機能的変化については、いまだ不明な点が多く残されている。特に、ARID1A 欠損に伴って、がん細胞が細胞株ごとに異なる細胞増殖および細胞死を示す理由を明らかにすることは、その分子基盤の理解に重要である。

本研究により、ARID1A 欠損が誘導する免疫関連応答の細胞内在的機序や、細胞状態に依存した応答の違いが明らかになれば、ARID1A 欠損がん患者の層別化に資する新たな指標の確立につながるとともに、将来的には ARID1A 欠損がんを標的とした新規治療標的の同定や治療戦略の開発へと発展することが期待される。

[4] 成果資料

本共同研究成果は、成果がまとまり次第、論文投稿や学会発表を行う予定である。