

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15604

研究課題名（和文）悪性末梢神経鞘腫瘍における転写拮抗機構を標的とした治療法の開発

研究課題名（英文）Development of therapies targeting transcriptional antagonism in malignant peripheral nerve sheath tumors

研究代表者

佐々木 麻里子（Sasaki, Mariko）

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：60816073

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）は子育て世代に多く発症する難治性希少がんである。本研究では、MPNSTの遺伝子異常に基づいた有望ながん治療法を開発するために、MPNST患者由来のがん細胞株を収集し、MPNST細胞株モデルを構築した。このモデル系を用いて、創薬標的を探索した結果、複数の標的因子と阻害剤の候補を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性末梢神経鞘腫瘍（MPNST）は子育て世代に多く発症し、転移を伴う悪性度の高い難治性希少がんであり、有望ながん治療法は確立されていない。MPNSTの特徴として70%の患者では、PRC2複合体遺伝子に異常がある。この遺伝子異常に基づいた治療標的を同定し、その阻害剤を創薬開発していくことで、MPNSTの有望ながん治療法の確立につながる。

研究成果の概要（英文）：Malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST) is a rare and refractory cancer that often develops in the child-rearing generation. In this study, we collected cancer cell lines derived from MPNST patients and constructed an MPNST cell line model to develop promising cancer therapies based on MPNST genetic abnormalities. As a result of searching for drug discovery targets using this model system, multiple target factors and inhibitor candidates were identified.

研究分野：腫瘍治療学

キーワード：悪性末梢神経鞘腫瘍 合成致死性 若年性がん

1. 研究開始当初の背景

悪性末梢神経鞘腫瘍 malignant peripheral nerve sheath tumor (MPNST)は悪性軟部腫瘍の5~10%でみられ特に50歳以下の若年に多く、転移を伴う悪性度の高い難治性希少がんである。MPNSTは手術療法が適用されるものの術後再発率が高いうえに、標準的な化学療法や放射線療法にも抵抗性で予後不良のため、新たな治療法の開発が必要である。MPNSTの75%では、クロマチン制御遺伝子SUZ12あるいはEEDが相互排他的に欠損型遺伝子異常を認める。SUZ12とEEDは、ヒストンメチル化酵素EZH1/2複合体(Polycomb Repressive Complex 2: PRC2複合体)の構成因子であり、SUZ12あるいはEEDが欠損するとPRC2複合体の機能が破綻する。これまでにPRC2複合体欠損型の遺伝子異常に基づく有望ながん治療法は提唱されていない。

2. 研究の目的

MPNSTでは、転写抑制因子であるPRC2複合体構成遺伝子SUZ12やEEDが欠損しているため、何らかの転写促進因子が優位に働くと考えられるが、その詳細は明らかになっていない。転写促進因子は、複数のヒストン修飾因子などのクロマチン制御因子が存在している。しかし、PRC2複合体欠損型MPNSTにおいて、どのような促進因子に依存しているかは明らかになっていない。MPNSTにおける転写抑制因子であるPRC2複合体と、これらの転写促進因子との機能的関係性が明らかになれば、MPNSTの本態解明だけでなく、促進因子を標的とした治療法の開発につながると考える。

そこで本研究では、PRC2複合体因子と拮抗的に働く転写促進因子の中から合成致死因子を同定し、機能的依存性のメカニズムを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) MPNST細胞株モデルの構築

SUZ12またはEED欠損型MPNST細胞株について、SUZ12、EEDの発現ベクターを導入し、欠損遺伝子の相補細胞株を樹立する。また、PRC2野生型MPNST細胞株について、CRISPR/Cas9システムを用いてSUZ12およびEEDのノックアウト細胞株を樹立する。

(2) PRC2欠損型MPNSTがん細胞株における合成致死因子の同定

PRC2複合体は転写の抑制因子であり、転写制御において転写の促進因子群と拮抗する。転写抑制因子の欠損細胞では促進因子群への依存性が生じ、それが弱点となる可能性がある。そこで、PRC2欠損細胞において転写促進因子をノックダウンや阻害剤処理によって合成致死性を示す因子を同定する。上記で構築した複数のモデル系で再検証し、共通して合成致死性を示す促進因子Xを絞り込む。うまくいかない場合はクロマチン制御因子等を網羅的に調べる。

4. 研究成果

まず MPNST モデルの構築を検討した。MPNST 細胞株は希少がんであり、一般に利用できる細胞株はほとんどなかった状況にあった。本研究では、MPNST の細胞株を収集し、細胞株パネルを構築した。次に、PRC2 複合体因子および H3K27me3 のタンパク質の発現を確認し、PRC2 複合体欠損型の細胞株が含まれる MPNST 細胞株パネルを構築した。そこで、これらの細胞株パネルにおける PRC2 欠損型細胞株に対して欠損遺伝子を相補した PRC2 レスキュー細胞株を樹立した。また PRC2 正常型細胞株に対して、Cas9 発現細胞株を樹立し、さらに CRISPR/Cas9 システムを用いて PRC2 欠損型がん細胞株の樹立を検討したが、ノックアウト細胞株を樹立することができなかった。

次に、PRC2 レスキュー細胞株モデルを用いて、PRC2 と拮抗的關係にある因子の阻害薬を用いて、PRC2 正常型細胞に比べて欠損型細胞に高い感受性を示す阻害薬を探索した。その結果、複数の因子に対する阻害薬を同定した。PRC2 欠損型レスキュー細胞株モデルを用いた検討によって見出した候補阻害剤について、複数の細胞株から成る MPNST 細胞株パネルでの PRC2 欠損型細胞への選択性を検討した。その結果、PRC2 正常型細胞株群に比べて、PRC2 欠損型細胞株群への高い感受性を示す複数の阻害剤の候補を同定した。

さらに、それらの阻害剤の標的遺伝子を抑制したときの致死性について PRC2 欠損型レスキュー細胞株モデルで検討した結果、PRC2 正常型では生存し、PRC2 欠損型では致死となる、すなわち合成致死性を示す遺伝子の候補を同定した。しかし、MPNST 細胞株パネルを用いて、複数の PRC2 正常型と PRC2 欠損型の細胞株で検証した結果、必ずしも合成致死性を示す結果が得られなかった。

また、MPNST 細胞株パネルの細胞株のマウス皮下への腫瘍形成能を検討したが、いずれの細胞株についても腫瘍形成を認めなかった。

新たな合成致死性標的を探索するために、CRISPR/Cas9 システムを用いた網羅的な標的探索を行うために、PRC2 正常型と PRC2 欠損型の細胞株に Cas9 遺伝子を導入した細胞株を樹立した。今後、網羅的な合成致死標的探索を行うことで、PRC2 欠損がんに有望な治療標的を同定していきたいと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------