

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：82606

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19470

研究課題名（和文）パラログ欠損がんを一網打尽にする合理的な合成致死治療法の開発

研究課題名（英文）Development of a rational synthetic lethal treatment to eliminate paralog-deficient cancer

研究代表者

荻原 秀明（Ogiwara, Hideaki）

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長

研究者番号：40568953

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：合成致死性とは細胞内の2つの遺伝子が両方とも機能欠損したときに細胞死が起こる現象である。この現象は、似ている遺伝子同士（パラログ）でもしばしば起きる。片方のパラログがない細胞では、相方のパラログを抑制すると合成致死性となる。このとき、相方のmRNAが転写レベルで増加する遺伝学的相補機構がマウスなどの下等生物において知られていた。本研究では、パラログのノックアウト細胞株におけるヒト細胞モデルで遺伝学的相補機構を検証した。その結果、片方のパラログが欠損しても、相方のパラログが相補する現象は、遺伝学的相補機構による転写制御ではなく、タンパク質の量的制御が関与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝学的相補機構は、マウスなどの下等生物で認められた現象であったが、本研究において、ヒト細胞株モデルで検証した結果、パラログ遺伝子間の転写を介した遺伝学的相補機構を確認することができなかった。しかし、当初想定していた転写レベルでの相補機構ではなく、タンパク質レベルでの相補機構が存在する可能性を見出した。これは、これまでに想定されていない細胞内の新規の機構が存在していることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：Synthetic lethality is a phenomenon in which cell death occurs when both genes in a cell are dysfunctional. This phenomenon often occurs between similar genes (paralogs). In cells without one paralog, suppression of the partner's paralog results in synthetic lethality. At this time, a genetic complementary mechanism by which partner mRNA increases at the transcriptional level was known in lower organisms such as mice. In this study, we examined the genetic complementarity mechanism in a human cell model in a paralog knockout cell line. As a result, the phenomenon of complementary paralogs in the partner even if one paralog is missing is thought to be related to quantitative regulation of proteins, rather than transcriptional regulation by genetic complementary mechanisms.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：パラログ 合成致死性

1. 研究開始当初の背景

クロマチン制御遺伝子は様々ながんで欠損型遺伝子異常が高頻度に認められる。一方で、クロマチン制御遺伝子はパラログが存在する遺伝子が多く存在する。つまり、1つのパラログ因子が遺伝子異常によって欠損しても、同様の機能を持つ別のパラログ因子が機能的に相補することで、細胞機能を堅牢的に維持していると考えられる。実際に、私たちは一つのパラログが欠損してもがん細胞として生きられるが、そのがん細胞はもう一方のパラログに依存しているため、その相補していたパラログを抑制するとがん細胞が生きられなくなるという、パラログ間の合成致死性の現象を発見した(Oike, Ogiwara et al., *Cancer Research*. 2013) (Ogiwara et al., *Cancer Discovery*. 2016)。私たちの研究グループだけでなく世界中の研究グループからも様々なパラログ遺伝子のペア間での合成致死性が提唱され、有望ながん治療法としての応用が期待されている。

欠損型遺伝子異常は、変異により遺伝子の途中でナンセンスコドンが生じる。そのため、転写の際に未成熟な mRNA が生じる。ナンセンスコドン依存性 RNA 減衰機構(Nonsense-Mediated RNA Decay: NMD)は未成熟 mRNA を分解する機構である。NMD 因子は、まず未成熟 mRNA を分解する。このとき未成熟 mRNA の配列と相同性の高い遺伝子(パラログ遺伝子)がある場合には、未成熟 mRNA に結合した NMD 因子は、パラログ遺伝子の相同配列に導かれる。さらに NMD 因子は転写促進因子をプロモーターに呼び込み、パラログ遺伝子の転写を促進する。この現象を遺伝学的相補機構(Genetic Compensation: GC)という。例えば、相同性の高い遺伝子同士であるパラログ X と X'があったとする。このとき X に欠損型の遺伝子異常が起こると未成熟 mRNA が生じるため、GC 機構で働く転写促進因子によって X'の発現が促進される。このようにパラログの片方に欠損型遺伝子異常が起こると、もう片方のパラログが機能欠損を相補する仕組みがある。これが GC 機構である。しかし、GC 機構で働く転写促進因子がどのような因子であるか、あるいはヒト細胞でも存在するかについては明らかになっていない。

2. 研究の目的

GC 機構が存在するのであれば、パラログを有する遺伝子が欠損したがん細胞(パラログ欠損がん)において、その遺伝子に相補的なパラログ遺伝子の転写が、GC 機構で働く転写促進因子によって促進されると考えられる。したがって、相補的パラログの阻害薬を用いなくても、GC 関連転写促進因子を阻害することができれば、相補的パラログ因子の発現を抑制できると考えられる。そのため、パラログ欠損がんでは、GC 関連転写促進因子の阻害で合成致死性が起こると考えられる。

そこで本研究では、GC 機構で働く転写促進因子を同定することを目的とする。本研究の成果は、様々なパラログ欠損がんに対して、GC 関連転写促進因子の阻害薬を用いた治療法の開発への発展が期待できる。

3. 研究の方法

研究目的を達成するための研究方法

GC 機構は、パラログの 1 つが欠損したときに、別のパラログの発現を促進させることで、その機能欠損を相補する。また、クロマチン制御遺伝子は多くのがんで高頻度に欠損型遺伝子異常が認められるだけでなく、それらの欠損型遺伝子には、パラログ遺伝子が多く存在する。そこで本研究では、ヒトがん細胞株モデルにおいて、クロマチン制御因子の欠損型遺伝子異常を相補するパラログ遺伝子の発現に関与する転写促進因子を以下の方法で同定する。

パラログを有する遺伝子の欠損型異常細胞株モデルの構築:

がんで欠損型遺伝子変異のみられるクロマチン制御遺伝子の中から、パラログが存在する遺伝子のノックアウト細胞株モデルを構築する。

パラログ遺伝子間の遺伝学的相補機構の確認:

パラログを有するクロマチン制御遺伝子の欠損型異常細胞株において、それらのパラログ遺伝子の mRNA の発現量を定量する。このとき、変異遺伝子の転写が減弱し、逆にそのパラログの転写が促進するという GC 機構を確認する。

GC 関連転写促進因子の同定:

GC 機構において、NMD 機構を介して、NMD 関連因子が欠損したパラログ遺伝子と相補的なパラログ遺伝子のプロモーター領域に転写因子を呼び込む。そこで、免疫沈降およびマススペクトロメトリー解析によって NMD 関連因子と相互作用するタンパク質を網羅的に探索する。それらの中から、クロマチン制御因子等の転写促進因子を絞り込む。さらに酵素活性など創薬標的となり得る因子に絞り込む。上記手法でうまくいかない場合は、パラログ欠損がんにおいて合成致死性を示す転写促進因子を網羅的に探索する。

4. 研究成果

BRG1、CBP は様々ながんで高頻度に欠損型遺伝子異常が認められ、これらの遺伝子のパラログとして BRM、p300 がそれぞれ存在する。また、BRG1、CBP の欠損型細胞では、BRM、p300 の抑制により合成致死性を示す。そこで、遺伝子間の機能的関係の解析を明確にするために正常型細胞である HEK293T のアイソジェニック細胞株モデルとして、BRG1-KO、CBP-KO 細胞株を樹立した。つぎに、パラログ BRG1/BRM、CBP/p300 の遺伝学的相補機構について、上記のノックアウト細胞株モデルで検証した。その結果、BRG1-KO 細胞株では、BRM のタンパク質の発現が増加したが、BRM の mRNA の発現の増加は認められなかった。逆に、BRM-KO 細胞株では、BRG1 のタンパク質の発現が増加したが、BRG1 の mRNA の発現の増加は認められなかった。同様に、CBP-KO 細胞株では、p300 のタンパク質の発現が増加したが、p300 の mRNA の発現の増加は認められなかった。逆に、p300-KO 細胞株では、CBP のタンパク質の発現が増加したが、CBP の mRNA の発現の増加は認められなかった。つまり、片方のパラログが欠損すると、相方のパラログの mRNA 量は変わらないが、“タンパク質量”が増加するということである。このように片方のパラログが欠損しても、相方のパラログが相補する現象は、遺伝学的相補機構による転写制御ではなく、タンパク質の量的制御が関与していると考えられた。

遺伝学的相補機構は、マウスなどの下等生物で認められた現象であったが、本研究において、ヒト細胞株モデルで検証した結果、パラログ遺伝子間の遺伝学的相補機構を確認することができなかった。し

かし、当初想定していた転写レベルでの相補機構ではなく、タンパク質レベルでの相補機構が存在する可能性を見出した。今後は、遺伝学的相補機構に替わるタンパク質相補機構を制御する機構を明らかにすることで、その機構を制御する因子を標的としたパラログ欠損がんの治療法の開発を目指す。

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
---------	---------