

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 10 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26830122

研究課題名(和文)クロマチンリモデリング関連遺伝子の変異に基づく新規がん治療法の開発

研究課題名(英文)Development of cancer therapy for chromatin remodeling 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・研究員

研究者番号：40568953

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

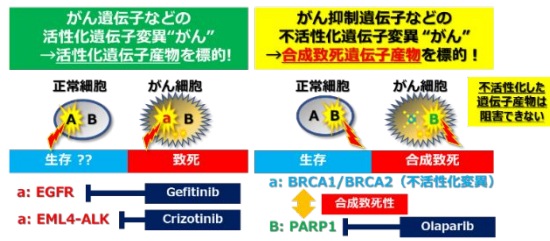
研究成果の概要(和文)：本研究において化合物XがARID1A欠損細胞に特異的に増殖抑制効果を示すことを見出した。HCT116 ARID1A-WT/ARID1A-KO細胞を用いて、化合物Xを処理したときの網羅的発現解析を行った結果、ARID1A-KO細胞においてアポトーシス経路と関連があることが分かった。ARID1A-KO細胞に化合物Xを処理するとアポトーシスを誘導するがARID1A-WT細胞ではアポトーシスが誘導されることが分かった。これらのことから、化合物XはARID1A欠損細胞に特異的にアポトーシスを誘導することによって特異的な増殖抑制作用を示すことがわかった。

研究成果の概要(英文)：The SWI/SNF chromatin remodeling gene ARID1A is frequently aberrant in ovarian and other many common cancers without effective therapies. A druggable vulnerability of ARID1A-deficient cancers would be useful for treating such cancers. Here, we show that compound X preferentially decrease survival of ARID1A-deficient cells and induce apoptosis in ARID1A-deficient cells.

研究分野：腫瘍治療学

キーワード：ARID1A

1. 研究開始当初の背景



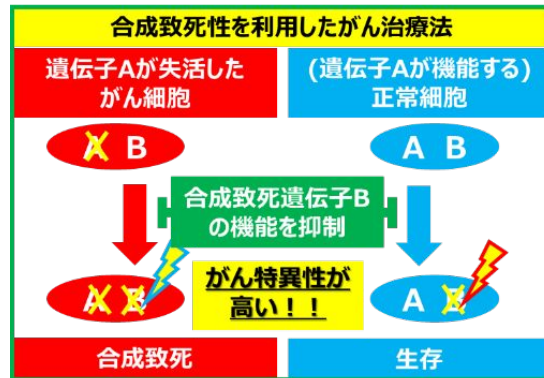
がんの個別化治療法は、がんでの遺伝子異常の特徴を踏まえて大きく二つに分類される。一つは、遺伝子異常により活性化したがん遺伝子（チロシンキナーゼ等）を阻害する方法である。もう一つは、がん抑制遺伝子異常により機能喪失したがんに対して、機能喪失した遺伝子との合成致死遺伝子を阻害する方法である（失活遺伝子産物（タンパク質）の機能は阻害することは出来ないため、失活遺伝子とは別の依存性遺伝子（合成致死遺伝子）を標的とする）。合成致死性とは、二つの遺伝子が両方機能喪失することで細胞死となる現象であり、どちらか片方の遺伝子の機能喪失では細胞死は起こらない。



そのため、合成致死性を利用したがん治療法（合成致死治療法）は、がん抑制遺伝子等の不活性化遺伝子異常のあるがんではその不活性化遺伝子 A との合成致死遺伝子 B を抑制することで致死となるが、正常細胞ではがん細胞で失活している遺伝子 A に異常はないため遺伝子 B だけを抑制しても致死とならない。このように合成致死治療法はがん特異性

の高い治療法が期待できる。

合成致死治療法の先駆的な報告は BRCA1/BRCA2 変異型乳がん卵巣がんに対する PARP 阻害剤を用いた治療法であり、2014 年 12 月に米国 FDA にて PARP 阻害剤 Olaparib が承認されたが、本邦ではまだ治験が検討されている状況にある。



2. 研究の目的

本研究の目的は、“がん細胞特異的に死滅させる”ことが可能な合成致死性を利用した新規治療法を開発することである。合成致死の概念は、例えば遺伝子 A が変異しているがん細胞に遺伝子 B を抑制すると致死（合成致死）となり、遺伝子 A が野生型である正常細胞に遺伝子 B を抑制しても致死とならないことである。即ち、がんのある変異遺伝子 A に着目して、遺伝子 A と合成致死となる遺伝子 B を見つけられれば、副作用の少ない治療が期待できる。本研究は、様々ながんで 10-50% と非常に高頻度に変異・異常のあるクロマチンリモデリング (CR) 関連遺伝子に着目し、それらの遺伝子と合成致死性を示す遺伝子を探索する研究である。最終的に、CR 関連遺伝子に変異のあるがん患者に対して、遺伝子 X の阻害剤を用いた新規分子標的治療法による個別化医療の開発への基盤としたい。

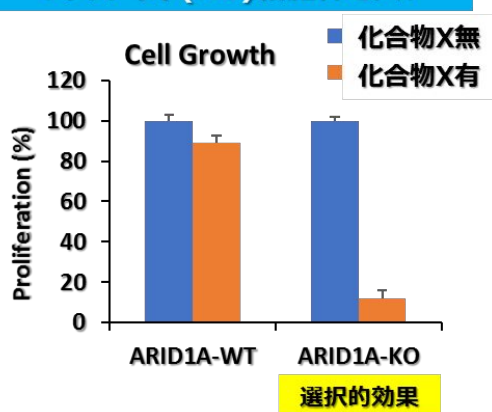
### 3. 研究の方法

本研究は、がんで高頻度に変異のある SWI/SNF クロマチンリモデリング (CR) 複合体関連遺伝子に着目し、それら遺伝子の合成致死遺伝子 X を探索する。siRNA ライブラリースクリーニングにより、がんで変異のある CR 関連遺伝子の変異がん細胞株で遺伝子 X を抑制すると致死となるが、野生型細胞株では致死とならない遺伝子 X を抽出する。また、化合物ライブラリースクリーニングにより、がんで変異のある CR 関連遺伝子の変異がん細胞株で選択的に致死性を示す化合物 X を同定する。さらに合成致死性のメカニズムを解明するとともに、細胞レベルだけでなく移植腫瘍抑制効果による生体内レベルでの合成致死性を検証することで、最終的に SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体関連遺伝子変異がんに特異的な分子標的候補を選定する。

### 4. 研究成果

#### ARID1A 欠損がん選択的抗がん剤の探索

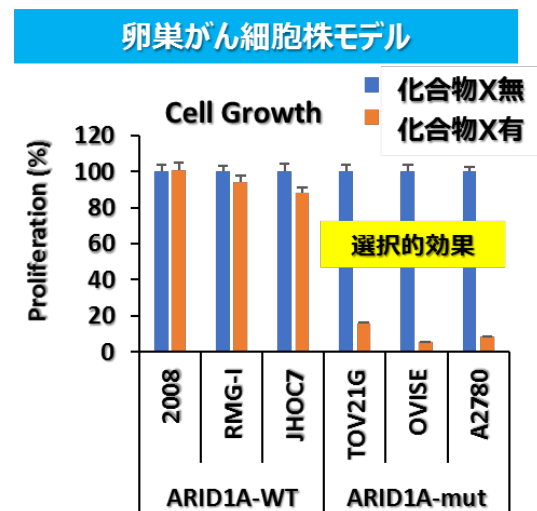
##### ノックアウト(KO)細胞株モデル



HCT116 ARID1A-WT(Wild type) /ARID1A-KO (Knockout) 細胞を用いて、ARID1A-KO 細

胞に特異的に増殖抑制を示す化合物を探索した。文部科学省化学療法基盤支援活動班標準阻害剤キット(333種類の標的既知化合物)を用いて探索した結果、ARID1A-KO 細胞株に選択的効果を示す化合物として化合物 X を同定した。

#### 卵巣がん細胞株モデルにおける化合物 X の選択性の検証



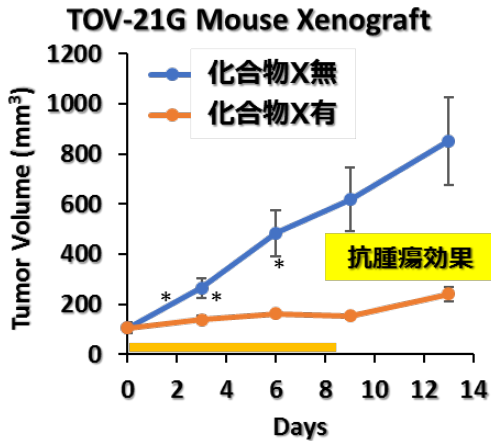
ARID1A 変異卵巣がん細胞株を用いた *in vitro* 細胞株モデルにおいて化合物 X は ARID1A 野生型細胞株群に比べて ARID1A 変異がん細胞株群に高感受性を示した。すなわち、化合物 X は ARID1A 変異がん細胞株に選択的効果を示すことが考えられた。

#### 化合物 X の卵巣がん細胞株マウス移植腫瘍モデルにおける検証

ARID1A 変異卵巣がん細胞株マウス移植腫瘍を用いた *in vivo* 細胞株モデルにおいて、化合物 X は ARID1A 変異がん細胞株のマウス移植腫瘍に対して増殖抑制作用を示した。すなわち、化合物 X は ARID1A 変異がんに抗腫瘍効

果を示すことが考えられた。

### 卵巣がん細胞株移植腫瘍モデル



#### ARID1A 欠損細胞の化合物 X による細胞死

##### 経路の解明

化合物 X がなぜ ARID1A 欠損細胞に特異的に増殖抑制効果を示すかについて検討した。

HCT116 ARID1A-WT/ARID1A-KO 細胞を用いて、化合物 X を処理したときの遺伝子発現変動を調べるためにマイクロアレイを用いた網羅的発現解析を行った。この解析の中で、ARID1A-KO 細胞で特異的に発現変動する遺伝子についてパスウェイ解析を行った。その結果、化合物 X を処理したときに誘導される遺伝子経路は、アポトーシス経路と関連があることが分かった。実際に、ARID1A-KO 細胞に化合物 X を処理するとアポトーシスを誘導するが、ARID1A-WT 細胞ではアポトーシスが誘導されないことが分かった。これらのことから、化合物 X は ARID1A 欠損細胞に特異的にアポトーシスを誘導することによって増殖抑制作用を示すことがわかった。

以上のことから、ARID1A 欠損がんにおける選択的抗がん剤候補として化合物 X を同定した。今後は、化合物 X の標的遺伝子と

ARID1A との合成致死性について検証し、そのメカニズムを解明していく予定である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計0件)

[学会発表](計0件)

[図書](計0件)

[産業財産権]

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ

<http://www.nccri.ncc.go.jp/s010/010/020/201512>

09212406.html

6．研究組織

(1)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  
究所ゲノム生物学研究分野・研究員

研究者番号：40568953

(2)研究分担者

(3)連携研究者

(4)研究協力者