

令和 7 年 5 月 1 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K07170

研究課題名（和文）大腸癌におけるエピゲノムを標的とした新規治療法開発と免疫回避機構阻害への応用

研究課題名（英文）Clinical Significance Of Bromodomain Protein BRD9 In Colorectal Cancer

研究代表者

波多 豪 (Hata, Tsuyoshi)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：80749747

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年、BRD9は腫瘍免疫との関連性も報告されているが、大腸癌との関連性を明らかにした報告は少数である。大腸癌におけるBRD9の発現意義を明らかにし、BRD9阻害が大腸癌に対する治療標的となる可能性があると考え、研究を計画した。当院切除検体を用いた免疫染色、染色強度と各症例の臨床病理学的因子の比較検討、統計解析を進め、BRD9が大腸癌の予後マーカーとなる可能性について示した。細胞実験、動物実験において、ノックダウン株を作成し、大腸癌の腫瘍悪性度との関連性について検討した。下流分子について網羅的解析を行い、E2F1パスウェイとの関連性を同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

クロマチン再構築因子であるSWI/SNF複合体のBAF, PBAFに次ぐ3つ目のサブタイプとしてnon-canonical BAFが新たに報告された。本研究により、BRD9は大腸癌における癌抑制分子として機能しており、Rb経路とp53経路が関与する細胞周期とアポトーシスを制御するE2F1パスウェイと関連していることが明らかとなった。BRD9の抑制が新規治療のターゲットとなる可能性が明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：Although BRD9 has been reported to be associated with tumor immunity these days, only a few reports have clarified its association with colorectal cancer (CRC). We conducted this study to clarify the significance of BRD9 expression in CRC and to consider the possibility that BRD9 inhibition could be a therapeutic target for CRC. We performed immunohistochemistry using resected specimens in our institution, compared staining intensity with clinicopathological factors. Statistical analysis demonstrated the possibility that BRD9 could be a prognostic marker for CRC. In vitro and vivo experiments, we created knockdown strains and revealed the relationship with tumor malignancy of CRC. A comprehensive analysis of downstream molecules identified a relationship with the E2F1 pathway.

研究分野：大腸癌

キーワード：BRD9

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大腸癌に対する治療戦略として、殺細胞性抗癌剤や分子標的治療薬、免疫チェックポイント阻害薬が日常臨床で使用される中、近年、エピゲノム治療が注目されるようになった。エピゲノムとは DNA メチル化やヒストンメチル化、アセチル化など塩基配列によらずゲノムの構造変換、遺伝子発現を制御する翻訳後修飾として機能し、従来の化学療法とは全く異なるメカニズムによる新たな治療標的として、世界中で様々な癌腫に対して臨床試験が進められている。現在、エピゲノムリーダーとしてヒストン中のアセチル化リジン残基を認識、結合するプロモドメイン蛋白質が脚光を浴びており、中でも BRD4 は MYC など複数の癌遺伝子の転写促進に関わる分子として報告され [Cell 2013;153:320-334]、次世代抗癌剤として、阻害薬の臨床開発が進められている。

2018 年に、SWI/SNF 複合体に含まれる BRD9 が新たなプロモドメイン蛋白質として報告され、次の治療標的分子として研究が進められている [Nat Commun 2019;10:1881, Cell Death Dis 2019;10:338]。SWI/SNF 複合体は、ATP 依存的にクロマチン構造を変化させて再構築する機能を持ち、BAF と PBAF という 2 種類のサブタイプが存在することが知られる。2018 年に新たに 3 つ目のサブタイプとして、non-canonical (nc) BAF が同定された [Nat Cell Biol 2018;20:1410-1420]。ncBAF はクロマチンの三次元構造を調節する CTCF と結合することが報告されており、従来の BAF および PBAF とは異なった経路で、クロマチン構造を変化させ、遺伝子発現制御を行なっている。上記のプロモドメイン蛋白質である BRD9 は、ncBAF の構成因子として、BRD4 と相互に作用して遺伝子転写を促進する重要な機能を担っており、滑膜肉腫や横紋筋肉腫、急性骨髄性白血病では、癌遺伝子としての機能を持つことが報告されている。その阻害薬として BRD9 を分解する dBRD9 が米国で開発され、今後の臨床応用へ向けて研究が進められている。一方、大腸癌における BRD9 発現の意義についての報告は少なく、本研究を計画するに至った。

### 2. 研究の目的

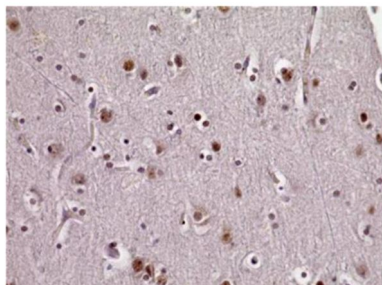
大腸癌におけるエピゲノムリーダー-BRD9 の発現意義を明らかにし、新規治療ターゲットとなる可能性を検証することを目的とする。

### 3. 研究の方法

臨床検体での解析として、手術切除検体の免疫染色により、BRD9 の大腸癌患者の予後との関連性を解析した。BRD9 と大腸癌悪性度について細胞実験での解析を行い、マウスモデルでの確認を行った。BRD9 が大腸癌において関連するシグナル経路を明らかにするため、ノックダウン細胞株の網羅的発現解析を行った。

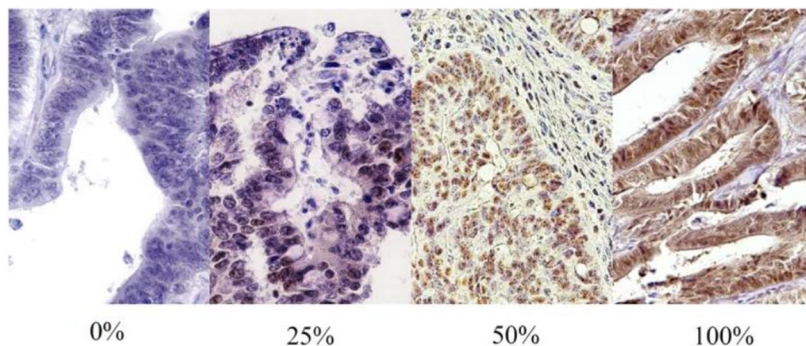
### 4. 研究成果

BRD9 の大腸癌における免疫組織学的染色を行うべく、ポジティブコントロールとして正常脳組織の染色を行った。



当院切除検体 124 例を用いて免疫組織学的染色を行った。癌部では核が染色されるものが多く、発現が高い細胞については細胞質でも染色が確認された。つまり、癌部において BRD9 の発現は増加している傾向があり、他の癌種に関する報告と一致する結果が得られた。

次に、それぞれの患者の付随する臨床情報をもとに、BRD9 の核での発現強度と生存期間との関連性を解析したところ、BRD9 高発現群が全生存期間、無病生存期間ともに予後不良であった。単変量、多変量解析により、全生存期間、無病生存期間において、BRD9 高発現が独立した予後不良因子として同定された。



細胞実験としては、大腸癌細胞株においてノックダウン株を作成し、それぞれの細胞株における大腸癌腫瘍悪性度との関連性について検討した。細胞増殖実験、細胞遊走能試験を行い、BRD9 ノックダウン株で細胞増殖能、遊走能の低下を認めた。また、動物実験では、皮下移植モデルにおいて、ノックダウン株での腫瘍形成能の低下が見られ、BRD9 は癌遺伝子としての機能を持つことが示唆された。

下流分子の同定については、網羅的解析を行い、E2F1 パスウェイとの関連性を同定した。E2F1 は Rb 経路と p53 経路が関与する細胞周期とアポトーシスの制御因子として中心的な役割を担っており、その上流で機能する BRD9 の制御は、新規治療開発における標的分子となる可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 知念 良直, 波多 豪, 関戸 悠紀, 荻野 崇之, 三吉 範克, 高橋 秀和, 植村 守, 山本 浩文, 江口 英利, 土岐 祐一郎
2. 発表標題 大腸癌におけるプロモドメイン含有蛋白質BRD9の発現意義の解明
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

〔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
研究分担者	植村 守  (Uemura Mamoru)  (10528483)	大阪大学・大学院医学系研究科・准教授    (14401)	

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