

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23701110

研究課題名(和文)パラログ遺伝子の合成致死性に基づく新規抗がん剤標的の探索

研究課題名(英文) Identification of anti-cancer targets based on synthetic lethality between paralogous genes

研究代表者

荻原 秀明(Ogiwara, Hideaki)

独立行政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) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：BRG1遺伝子は、肺腺がんの10%程度で遺伝子異常がある。BRG1異常がんにおいて、BRG1のパラログであるBRMが細胞増殖に必須である、即ち合成致死性であることを見出した。この成果によって、BRG1遺伝子に異常のあるがん患者に対して、BRMの分子標的薬が抗がん剤になり得る可能性を見出した。現在、BRMの阻害剤の開発に着手しており、トランスレーショナルリサーチへと発展させていきたいと考えている。

研究成果の概要(英文)：BRG1 gene is mutated or lost in 10% of lung adenocarcinoma. We found that BRM, BRG1 paralogous gene, is essential for BRG1 deficient cancer cells, that is, BRM is synthetically lethal with BRG1. Our research indicated that molecular target inhibitor for BRM is a candidate of anti-cancer agent for the cancer patient with BRG1 deficiency. Now, we started the development of BRM inhibitor to lead to translational research.

研究分野：腫瘍学

科研費の分科・細目：臨床腫瘍学

キーワード：SWI/SNF BRG1 合成致死 クロマチンリモデリング 分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤によるがん治療で重要となるのは、正常細胞に対する影響をいかに少なくして、がん細胞を特異的に殺傷することである。しかし、現在臨床で使用されているほとんどの抗がん剤は、がん細胞のみならず正常細胞にも作用するため、毒性が生じやすい問題がある。そのため、抗がん剤による新しい治療戦略として、がん細胞の特徴に基づいたタンパク質を標的とする分子標的薬治療法の開発に期待が高まっている。近年、合成致死性(Synthetic Lethality)を利用した治療法が注目を浴びている。右図のように合成致死とは、例えば遺伝子 A と B がある時に、片方の A または B のみが機能しなくても生存に影響はないが、同時に二つの遺伝子が機能しなくなると細胞が致死となることである。つまり、それらの遺伝子は生存のために機能的に相補し合っていると考えられる。

2. 研究の目的

抗がん剤によるがん治療で重要となるのは、正常細胞に対する影響をいかに少なくして、がん細胞を特異的に殺傷することである。そのためには、がん細胞の特徴に基づいた抗がん剤の開発が必要である。遺伝子の中には相同性が高く類似した機能を有するパラログ遺伝子が存在し、細胞の生存のために機能的に相補している可能性がある。つまり、それぞれのパラログ遺伝子の機能を阻害することで細胞が致死(合成致死)となることが考えられる。本研究では、がん抑制遺伝子の中でパラログ遺伝子が存在する遺伝子群に着目して、がん抑制遺伝子と合成致死性を示すパラログ遺伝子を同定することが目的である。

3. 研究の方法

本研究は、現段階で候補に挙がっている

CBP、BRG1 とそれぞれのパラログ遺伝子の解析を中心に進める(研究 1)。また候補の可能性を広げるだけでなく計画通りに結果が出ない場合に備えるためにも、がん抑制遺伝子と合成致死性を示す新規パラログ遺伝子群の探索も進めていく(研究 2)。

< 研究 1. CBP と BRG1 それぞれのパラログとの合成致死性の検討 >

CBP、BRG1 遺伝子変異がん細胞に対してそれらのパラログ遺伝子を抑制したときに顕著な生存率の低下がみられることを *in vitro* で詳細に検討し、合成致死性の可能性があれば *in vivo* で検討する。

< 研究 2. 合成致死性を示す新規のがん抑制遺伝子-パラログ遺伝子群の探索 >

がんゲノムデータベースを基に合成致死性を示す新規パラログ遺伝子群の探索を行う。そして新規標的候補が同定され次第、それらについて研究 1 の手法に基づき合成致死性の解析を行う。

4. 研究成果

BRG1 変異細胞の合成致死遺伝子として BRM を同定し、合成致死性の原因が細胞老化によるものであることを見出した。また、BRG1 変異株においてドキシサイクリンの添加による shRNA の発現によって BRM を抑制可能な細胞株を樹立した。この細胞株における *in vitro* およびマウス移植腫瘍による *in vivo* の実験系において、BRG1 変異型細胞株では BRM を抑制することにより増殖抑制が特異的に起こることを明らかにした。また、肺腺がんの臨床検体では、10%程度で BRG1 の発現が欠失し、肺がんの治療標的バイオマーカーである EGFR 変異や ALK 融合とは相互排他的であることを明らかにした。すなわち、EGFR 阻害剤や ALK 阻害剤による分子標的治療の対象とならない患者において、BRG1 の発現が抑制されている患者を対象とした BRM 阻害剤によ

る新規治療法の可能性が示唆された。この内容を論文として報告した。さらに現在、製薬企業と共同研究にて BRM 阻害薬を開発中である。

また、合成致死性を示す新規のがん抑制遺伝子-パラログ遺伝子群の探索を行い、CBP等のパラログをもつがん抑制遺伝子を選定し、それらの変異細胞株を収集し、siRNA、化合物ライブラリースクリーニングあるいはパラログ遺伝子との合成致死性を検討した。その結果、がんで高頻度に遺伝子変異を持つ細胞と合成致死性を示す遺伝子候補を複数種類同定することができた。本年度は、CBP 変異がんにおける合成致死性について詳細な検討を行った。*In vitro* および *in vivo* 実験系において CBP 変異細胞株のアポトーシスによって合成致死性を示すが、正常細胞や CBP 野生型細胞株では合成致死性を示さないことがわかった。さらに合成致死性の詳細なメカニズムについて検討している。

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 10 件)

1. Watanabe R, Ui A, Kanno S, Ogiwara H, Nagase T, Kohno T, Yasui A. SWI/SNF Factors Required for Cellular Resistance to DNA Damage Include ARID1A and ARID1B and Show Interdependent Protein Stability. *Cancer Res.* 74:2465-2475. 2014, 査読有
2. Oike T, Komachi M, Ogiwara H, Amornwichee N, Saitoh Y, Torikai K, Kubo N, Nakano T, Kohno T. C646, a selective small molecule

inhibitor of histone acetyltransferase p300, radiosensitizes lung cancer cells by enhancing mitotic catastrophe.

Radiother Oncol. 2014 [In press] 査読有

3. Nakaoku T, Tsuta K, Ichikawa H, Shiraishi K, Sakamoto H, Enari M, Furuta K, Shimada Y, Ogiwara H, Watanabe SI, Nokihara H, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, Ishigame T, Schetter AJ, Okayama H, Harris CC, Kim YH, Mishima M, Yokota J, Yoshida T, Kohno T. Druggable Oncogene Fusions in Invasive Mucinous Lung Adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2014 [In press] 査読有
4. Kato K, Nakajima K, Ui A, Muto-Terao Y, Ogiwara H, Nakada S. Fine-tuning of DNA damage-dependent ubiquitination by OTUB2 supports the DNA repair pathway choice. *Mol Cell.* 53:617-630. 2014 査読有
5. Mizukami T, Shiraishi K, Shimada Y, Ogiwara H, Tsuta K, Ichikawa H, Sakamoto H, Kato M, Shibata T, Nakano T, Kohno T. Molecular Mechanisms Underlying Oncogenic RET Fusion in Lung Adenocarcinoma. *J Thorac Oncol.* 9:622-630. 2014 査読有
6. Oike T, Ogiwara H, Amornwichee N, Nakano T, Kohno T. Chromatin-regulating proteins as targets for cancer therapy. *J Radiat Res.* 2014 [Inpress] 査読有

7. Oike T, Ogiwara H, Nakano T, Yokota J, Kohno T.
Inactivating mutations in SWI/SNF chromatin remodeling genes in human cancer.
Jpn J Clin Oncol. 43:849-855. 2013, 査読有
8. Ogiwara H, Ui A, Shiotani B, Zou L, Yasui A, Kohno T.
Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as a sensitizer to PARP inhibitor.
Carcinogenesis. 34:2486-2497. 2013, 査読有
9. Oike T, Ogiwara H, Tominaga Y, Ito K, Ando O, Tsuta K, Mizukami T, Shimada Y, Isomura H, Komachi M, Furuta K, Watanabe S, Nakano T, Yokota J, Kohno T.
A synthetic lethality-based strategy to treat cancers harboring a genetic deficiency in the chromatin remodeling factor BRG1
Cancer Res. 73:5508-5518, 2013, 査読有
10. Ui A, Ogiwara H, Nakajima S, Kanno S, Watanabe R, Harata M, Okayama H, Harris CC, Yokota J, Yasui A, Kohno T.
Possible involvement of LKB1-AMPK signaling in non-homologous end joining
Oncogene. 33:1640-1648. 2014, 査読有

〔学会発表〕(計 3件)

1. 第72回日本癌学会学術総会
2013年10月5日

Curcumin suppresses multiple DNA damage response pathways and has potency as sensitizer to PARP inhibitor

Hideaki Ogiwara, Ayako Ui, Bunsho Shiotani,

Lee Zou, Akira Yasui, Takashi Kohno

2. 日本放射線影響学会第56回大会
2013年10月19日
DNA切断修復と発がん・がん治療
河野隆志、荻原秀明、尾池貴洋、水上達治、白石航也

3. 原研・国際キックオフシンポジウム
2013年11月28日
Personalized Medicine of Lung Adenocarcinoma Based on Genetic Alterations
Takashi Kohno Ph D, Hideaki Ogiwara Ph D, Tatsuji Mizukami MD

〔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 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〕

ホームページ等

ゲノム生物学研究分野

http://www.ncc.go.jp/jp/nccri/divisions/genome_biology/index.html

6. 研究組織

(1)研究代表者

荻原 秀明 (Ogiwara, Hideaki)

独立行政法人国立がん研究センター・研究所・研究員

研究者番号：40568953

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：