



Title	Therapeutic Potential of Bromodomain and Extra-Terminal Domain Inhibitors for Synovial Sarcoma Cells
Author(s)	小谷, 悠貴
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/98650">https://hdl.handle.net/11094/98650</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	小谷 悠貴
論文題名 Title	Therapeutic Potential of Bromodomain and Extra-Terminal Domain Inhibitors for Synovial Sarcoma Cells (滑膜肉腫に対するBET阻害剤の抗腫瘍効果)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>滑膜肉腫は軟部肉腫の5%を占め、若年の四肢に好発する悪性腫瘍である。治療は広範切除術が基本であり、既存の抗がん剤に対する効果は限定的で予後不良の軟部肉腫として知られている。特徴としてSS18-SSX融合遺伝子の発現が認められており、本邦において転座関連肉腫のうち頻度が一番高い腫瘍である。SS18-SSXは、正常細胞においてBAF複合体のサブユニットであるSS18に置き換わり、BAF複合体の局在を変化させることで多くの遺伝子の発現異常を引き起す。また融合遺伝子以外の遺伝子変異をほとんど認めず、このSS18SSXのエピゲノムを介した作用が腫瘍の発生や維持に関与していると考えられている。本研究ではヒストン修飾の一つであるアセチル化に注目した。プロモドメイン含有タンパク質、通称BETはヒストンアセチル化を認識し、RNA pol II、p-TEF bをリクルートすることで、遺伝子の転写や伸長を促進する。代表的なBETであるBRD4は、多くの腫瘍に関わる遺伝子のエンハンサー領域に高密度に存在しており、BET阻害剤はBRD4を阻害し遺伝子発現を抑制することが報告されている。またBET阻害剤は、がん原遺伝子MYCや細胞周期レギュレーターCCND1を阻害しG1細胞周期停止を引き起こすことが報告されているが、滑膜肉腫に対する治療効果の報告はない。本研究の目的は、BET阻害剤の滑膜肉腫に対する抗腫瘍効果を検討することである。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>滑膜肉腫細胞株、その他の軟部肉腫細胞株、ヒト皮膚線維芽細胞株に対してBET阻害薬JQ1、ABBV-075を用いて、細胞増殖抑制効果や細胞周期、RNAやタンパクの発現を調べた。滑膜肉腫細胞株は、JQ-1、ABBV-075投与によりどちらも濃度依存的な増殖抑制効果を認めた。またABBV-075の投与に伴い、アポトーシスタンパクcleaved caspase 3の発現を認めた。他の軟部肉腫細胞株に対してABBV-075を投与したところ、他の軟部肉腫と比較し滑膜肉腫に有効である可能性が示唆された。<i>in vivo</i>の検討では、投薬群で有意に腫瘍増殖抑制効果を認め、免疫染色でKi-67陽性細胞率の有意な低下を認めた。FACSによる細胞周期解析では、G0/G1期の割合の上昇、S期の低下を認め、G1期細胞周期停止を生じた。G1期からS期への移行に関わる遺伝子やタンパクの発現を調べたところ、CCND1、CDK4、CDK6の発現低下、その上流のp21の発現上昇、MYCの発現低下を認めた。アポトーシスの機序を検討するため施行したRNA-seqでは、pathway解析で同定された上位の経路においてアポトーシスを制御するBCL2ファミリーが共通して含まれることが分かった。中でも抗アポトーシス因子BCL2、BCLxLの発現が低下し、アポトーシス促進因子のBIM、PUMAの発現が上昇することが分かり、その発現変動比率からBCLxLやBIMが感受性に関連する可能性が示唆された。次に、SS18SSXのサイレンシングを行った細胞株においてABBV-075を投与したWST-8アッセイを施行したところ、SS18SSXをサイレンシングすることによりABBV-075に対する感受性の低下を認めた。GSEのデータベースから得られたRNA-seqの結果より、融合遺伝子のサイレンシングによって最も有意に発現が低下する遺伝子の1つとしてBCL2が挙げられた。BCL2ファミリーにおいては、BCL2のみが融合遺伝子サイレンシングによって発現が低下し、滑膜肉腫において融合遺伝子の発現に伴い、BCL2が過剰発現することでアポトーシス経路を阻害している可能性が示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>今回の結果よりBET阻害剤は細胞周期を抑制することに加えて融合遺伝子の発現によって阻害されているアポトーシス経路を促進することにより抗腫瘍効果を發揮することがわかった。滑膜肉腫においては、融合遺伝子の発現に伴うCyclin D1の高発現が報告されており、G1/S checkpointをターゲットとしたCDK4/6阻害剤が有効との報告もある。またBCL2の過剰発現についても以前から多くの報告がある。しかしBCL2単独の阻害剤と比較しBCL2/BCLxL阻害剤やBCLxL単独の阻害剤が効果的との報告もあり、BCL2ファミリーが滑膜肉腫に対して有効な治療ターゲットとなりうると考えられた。BET阻害剤については、G1期細胞周期停止を生じアポトーシスを誘導することが知られており、細胞周期レギュレーターやBCL2ファミリーをターゲットとする報告も多い。BET阻害剤はG1期細胞周期停止、アポトーシスの誘導を介して滑膜肉腫に抗腫瘍効果を發揮した。BET阻害剤は滑膜肉腫に対して有望な治療薬と考えられる。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 小谷 悠貴

論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 審 大阪大学教授	小谷 悠貴
	副 審 大阪大学特任教授	田中 啓之
	副 審 大阪大学教授	中田 石介

## 論文審査の結果の要旨

申請者らは滑膜肉腫の新規治療法を探索するにあたり、融合遺伝子SS18SSXのエピゲノムを介した作用に注目した。ヒストンアセチル化を認識するBRD4を阻害し遺伝子発現を抑制するBET阻害剤の滑膜肉腫細胞株に対する抗腫瘍効果を検討した。滑膜肉腫細胞株はBET阻害剤に対し濃度依存的な増殖抑制効果を認め、その効果はマウスを用いた *in vivo* の検討においても示された。BET阻害剤の抗腫瘍効果の機序の1つとして、G1期細胞周期停止を同定し、MYCを始めとする細胞周期レギュレーターの制御を確認した。また、アポトーシスに関わる機序としてRNA-seqの結果からBCL2ファミリーが関与していることが明らかとなった。融合遺伝子をサイレンシングすると、BET阻害剤の感受性は低下した。滑膜肉腫においてBCL2ファミリーの1つである抗アポトーシスタンパクBCL2が過剰発現し、アポトーシスを阻害している可能性が示唆された。本研究は、BET阻害剤が滑膜肉腫に対してG1期細胞周期停止、アポトーシスの誘導を介して抗腫瘍効果を發揮し、有望な治療薬となることを示すものであり、学位に値するものと認める。