

令和 7 年 6 月 13 日現在

機関番号：32692

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2024

課題番号：21K06863

研究課題名（和文）合成致死表現型を利用した腫瘍増殖機構の解析

研究課題名（英文）Analysis of the Molecular Mechanisms of Tumor Proliferation Using Synthetic Lethality Phenotypes

研究代表者

村上 優子（渡並優子）（Murakami-Tonami, Yuko）

東京工科大学・応用生物学部・教授

研究者番号：70405174

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）：悪性中皮腫の原因遺伝子（がん抑制遺伝子）変異に対する合成致死を標的とした分子標的薬の可能性を探究した。BAP1変異においてはUSP1関連経路が、LATS2変異ではHippo経路とテロメラーゼ制御が細胞死に関与することを明らかにした（Cell Death Discov. 2022）。SETDB1変異に関しても合成致死候補遺伝子を同定し、今後機能解析を進める予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

悪性中皮腫の原因遺伝子変異に対する合成致死の分子機構を解析し、がん抑制遺伝子変異に依存した細胞死制御の理解を深めた。特にLATS2変異とテロメラーゼ活性制御の関連は、細胞増殖機構に関する基礎医学的理解を進展させる成果である。これらの知見は、今後、副作用の少ない治療法の探索において基盤的情報となることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated the potential of synthetic lethal-based molecular targeted therapy against tumor suppressor gene mutations in malignant mesothelioma. We found that USP1-related pathways are involved in BAP1 mutated cells, and that telomerase regulation induces cell death in LATS2 mutated cells (Cell Death Discov. 2022). We confirmed the synthetic lethality of candidate genes in SETDB1 mutated cells. Further functional analysis is planned.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：悪性中皮腫 合成致死

1. 研究開始当初の背景

悪性中皮腫はアスベスト暴露などに起因する極めて予後不良の腫瘍であり、現在も有効な治療法は確立されていない。悪性中皮腫の原因遺伝子はいずれもがん抑制遺伝子であり、がん抑制遺伝子を活性化させる薬剤の開発は一般的に困難である。そこで、合成致死を利用することでがん抑制遺伝子変異を持つがんにおいてもがん細胞特異的に死滅させる(副作用が少ない)分子標的薬が開発できると考えた。本研究では悪性中皮腫の原因遺伝子変異と合成致死表現型を示す遺伝子を同定し、担がんマウスでの表現型を確認する。さらに、合成致死表現型を示す分子機構を明らかにすることで、原因遺伝子/候補遺伝子の腫瘍における新規機能も明らかにする。

2. 研究の目的

本研究では、悪性中皮腫(BAP1 変異、LATS2 変異、SETDB1 変異がん)における細胞増殖機構の分子基盤を確立するとともに、合成致死を利用した新規分子標的薬候補としての評価を行うことを目的とした。具体的には、研究代表者は悪性中皮腫において、ゲノムワイドの shRNA ライブラリースクリーニングを行い、悪性中皮腫の原因遺伝子である BAP1 変異、LATS2 変異、SETDB1 変異とそれぞれ合成致死表現型を示す遺伝子を複数同定したもののうち、

(1) BAP1 変異に関して、USP1 の関わる DNA 修復経路にどのように BAP1 が関与しているか、DNA 複製が阻害された場合の DNA 二重鎖切断を介した修復経路にどのように BAP1 が関与しているかを明らかにすることで、新規の BAP1 の機能を明らかにすること

(2) LATS2 変異に関しては、LATS2 (Hippo 経路) がどのようにテロメラーゼ活性制御に関与しているか明らかにすること

(3) SETDB1 変異に関しては、SETDB1 変異と合成致死を示す遺伝子を同定し、SETDB1 の新規機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) BAP1 変異に関して、USP1 について、in vitro で同定された BAP1 と USP1 の共通の脱ユビキチン化標的タンパクが細胞内でも同様に共通の標的分子になっているかを確認した。CHK2 について、DNA 複製が阻害された場合の DNA 二重鎖切断を介した修復経路に BAP1 が関与していることが予備的なデータより示唆されたため、その経路に焦点を当て BAP1 の新規機能を解析した。以上の知見を踏まえ、マウスモデルを用いて合成致死表現型の再現性を評価した。

(2) LATS2 変異に関して、予備的なデータから、合成致死表現型には Hippo 経路において LATS2 キナーゼ下流にある転写活性化因子である YAP が必要であること、TERT 阻害剤でも同様に LATS2 変異と合成致死を示すことが示唆された。これらの知見に基づき Hippo 経路とテロメラーゼ活性制御に着目して詳細な解析を行なった。細胞レベルで得られた結果について、マウスモデルにおける表現型の確認を実施した。

(3) SETDB1 変異に関して、スクリーニングおよびデータ解析から得られた候補遺伝子を個別にノックダウンし、培養細胞における表現型を評価した。

4. 研究成果

(1) BAP1 変異に関して、in vitro で同定した BAP1 と USP1 の共通の標的は、細胞内では USP1 をノックダウンすることで発現量も低下することが明らかとなり、ユビキチン化に関しては結論を出すのが難しかった。マウス個体における表現型については、細胞レベルで得られた結果と同様の傾向が見られた。これらの結果は現在、論文として投稿準備中である。

(2) LATS2 変異に関して、Hippo 経路および SMG6 によるテロメラーゼ活性の制御が、細胞死

の誘導に関与することを細胞レベルおよびマウスモデルの両方で明らかにした。これらの成果は、Cell Death Discovery (2022 年) に発表した。

(3) SETDB1 変異に関して、SETDB1 変異細胞株の樹立に想定以上の時間を要したため、候補遺伝子の抑制により合成致死が誘導されることを明らかにするにとどまった。今後は、候補遺伝子の機能に SETDB1 がどのように関与するかに注目し、解析を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Suzuki K, Tange M, Yamagishi R, Hanada H, Mukai S, Sato T, Tanaka T, Akashi T, Kadomatsu K, Maeda T, Miida T, Takeuchi T, Murakami H, Sekido Y, Murakami-Tonami Y | 4. 巻 8 |
| 2. 論文標題 Damage and Cell Survival in Hippo Pathway Kinase LATS2-Inactivated Malignant Mesothelioma | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cell Death Discovery | 6. 最初と最後の頁 446 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41420-022-01232-w | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|---|--------------------------|
| 1. 著者名 Fujikawa Y, Mori M, Tsukada M, Miyahara S, Sato-Fukushima H, Watanabe E, Murakami-Tonami Y, Inoue H | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Pi-class Glutathione S-transferase (GSTP1)-selective fluorescent probes for multicolour imaging with various cancer-associated enzymes | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 ChemBioChem | 6. 最初と最後の頁 e202200443 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cbic.202200443 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 Watanabe K, Fujikawa Y, Murakami-Tonami Y, Mori M, Sakata M, Inoue H | 4. 巻 251 |
| 2. 論文標題 Design and synthesis of versatile GSTP1-specific fluorogenic substrates for the highly sensitive detection of GSTP1 activity in living cells | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Talanta | 6. 最初と最後の頁 123796 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.talanta.2022.123796 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である） | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

| | |
|--|--|
| 1. 発表者名 Kosuge S, Yamada T, Miida T, Aiba H, Murakami-Tonami Y, Murakami H | |
| 2. 発表標題 Cds1 regulates the meiosis specific transcription factor Mei4 in the meiotic DNA replication checkpoint in fission yeast. | |
| 3. 学会等名 11th International fission yeast meeting（国際学会） | |
| 4. 発表年 2023年 | |

| |
|---|
| 1．発表者名 nami H, Suzuki K, Tange M, Akashi T, Kaneda N, Maeda T, Miida T, Murakami H, Kadomatsu K, Sekido Y, Murakami-Tonami Y |
| 2．発表標題 Suppression of CHK2 expression inhibits cell proliferation in malignant mesotheliomas harboring BAP1 mutation |
| 3．学会等名 第82回日本癌学会学術総会 |
| 4．発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 Suzuki K, Kobayashi K, Akashi T, Kaneda N, Maeda T, Miida T, Murakami H, Kadomatsu K, Sekido Y, Murakami-Tonami Y |
| 2．発表標題 Suppression of USP1 expression inhibits cell proliferation in malignant mesotheliomas harboring BAP1 mutation |
| 3．学会等名 第82回日本癌学会学術総会 |
| 4．発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 丹下将希、鈴木浩也、竹内稔紘、西谷優佑、三井田孝、村上浩士、関戸好孝、早川一郎、佐藤綾人、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 悪性中皮腫原因遺伝子の変異細胞特異的に細胞増殖を抑制する化合物候補の探索 |
| 3．学会等名 第95回日本生化学会大会 |
| 4．発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1．発表者名 鈴木浩也、山岸良多、向井智美、紅朋浩、竹内一郎、門松健治、前田徹、村上浩士、三井田孝、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 LATS2変異悪性中皮腫においてSMG6はDNA損傷及び細胞増殖を制御する |
| 3．学会等名 第95回日本生化学会大会 |
| 4．発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 村上（渡並）優子、小菅清二、新井洸、山田貴富、東間竜也、新屋孝則、岡崎亜美、村上浩士 |
| 2．発表標題 分裂酵母においてlong non-coding RNA であるmeiRNAは接合フェロモンがないときに転写活性化因子Rep1の発現を制御し、減数分裂の‘スタート’に必要である |
| 3．学会等名 第95回日本生化学会大会 |
| 4．発表年 2022年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 丹下将希、鈴木浩也、村上浩士、三井田孝、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 BAP1とCHK2の共発現抑制中皮細胞株における細胞増殖抑制機構の解析 |
| 3．学会等名 第45回日本分子生物学会年会 |
| 4．発表年 2022年 |

| |
|--|
| 1．発表者名 丹下将希、鈴木浩也、三井田孝、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 BAP1変異悪性中皮腫細胞株におけるCHK2の役割 |
| 3．学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会 |
| 4．発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1．発表者名 LATS2変異悪性中皮腫に対する新規合成致死遺伝子を標的とした抗腫瘍活性の包括的評価 |
| 2．発表標題 鈴木浩也、向井智美、三井田孝、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 3．学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会 |
| 4．発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1．発表者名 Kirara Kobayashi, Koya Suzuki, Takashi Miida, Yoshitaka Sekido, Yuko Murakami-Tonami |
| 2．発表標題 Functional analysis of a gene showing a synthetic lethal phenotype for BAP1 mutation in malignant mesothelioma |
| 3．学会等名 第80回日本癌学会学術総会 |
| 4．発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 Shiori Oishi, Nobuki Matsubara, Koya Suzuki, Tomoko Okada, Toru Imamura, Yuko Murakami-Tonami |
| 2．発表標題 Correlation of FGF13-expression level and enhanced cisplatin resistance in A549 lung cancer cells |
| 3．学会等名 第80回日本癌学会学術総会 |
| 4．発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 稲見 陽香, 鈴木浩也, 丹下将希, 三井田孝, 村上浩士, 関戸好孝, 村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 BAP1変異悪性中皮腫におけるCHK2の役割 |
| 3．学会等名 2024年度 日本生化学会関東支部例会 |
| 4．発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 鈴木浩也、小林輝星、三井田孝、村上浩士、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 USP1の発現抑制はBAP1変異を有する悪性中皮腫の細胞増殖を抑制する |
| 3．学会等名 第97回日本生化学会大会 |
| 4．発表年 2024年 |

| |
|---|
| 1．発表者名 稲見陽香、鈴木浩也、村上浩士、関戸好孝、村上（渡並）優子 |
| 2．発表標題 悪性中皮腫におけるHippo経路制御分子LATS1と分泌タンパク質Dermokineの相乗的抗腫瘍効果 |
| 3．学会等名 第97回日本生化学会大会 |
| 4．発表年 2024年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

| |
|--|
| 大学院バイオニクス専攻の学生と教員の論文が科学誌「Cell Death Discovery」に掲載 https://www.teu.ac.jp/information/2022.html?id=231 |
|--|

| 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 |
|---------|---------|