



Evaluation of selective sensitivity of EZH2 inhibitors based on synthetic lethality in ARID1A-deficient gastric cancer

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2020-04-28 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 山田, 玲央 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2000309

論文内容要旨

しめい 氏名	やまだ れお 山田 玲央
学位論文題名	Evaluation of selective sensitivity of EZH2 inhibitors based on synthetic lethality in ARID1A-deficient gastric cancer. (ARID1A 欠損胃癌に対する合成致死に基づいた EZH2 阻害剤の選択的感受性の検討)
【背景】 <p><i>AT-rich interactive domain 1A</i> (ARID1A) 遺伝子は SWI/SNF クロマチンリモデリング遺伝子群の一つで、癌抑制遺伝子として細胞の発生、分化、増殖、DNA 損傷修復等に関与する。胃癌の約 30% に変異を認めるが、その変異の殆どは蛋白欠損を伴う失活型変異であるため、直接の治療標的とする事は従来困難であった。しかし近年、合成致死の概念に基づいた治療法の開発が進められ、その有用性が報告され始めている。</p> <p>合成致死とは相補的に DNA 損傷修復を担う 2 つの遺伝子のうち、一方の遺伝子のみの欠失では癌細胞は生存し続けるが、さらにもう一方の遺伝子を欠失させる事で癌細胞が DNA 損傷修復困難な状態を促し、細胞死を誘導する概念である。</p> <p>EZH2 はヒストン H3 の 27 番目のリジンをメチル化するヒストンメチル化酵素であり、卵巣癌で ARID1A 欠損に対して合成致死性を持つ事が報告されている。しかし ARID1A 欠損胃癌に対する EZH2 阻害剤の選択的感受性はいまだ詳細な報告が無い。</p> 【方法】 <p>EZH2 阻害剤の ARID1A 欠損胃癌に対する選択性を検討する為、EZH2 への阻害選択性が異なる 3 種類の阻害剤 (GSK126、GSK343、EPZ005687) を用いて細胞実験を行った。まず当科所有の 6 つの胃癌細胞株で ARID1A、EZH2 蛋白発現をウエスタンブロット法で確認し、TCGA データベースに照らし合わせた。続いて接着型の ARID1A 遺伝子欠損型 NUGC3 と野生型 MKN7 細胞を用いて、EZH2 阻害剤に対する細胞活性率と生存率を CCK-8 を用いた細胞増殖アッセイ法とコロニー形成アッセイ法を用いて各々測定した。さらに ARID1A 遺伝子野生型の MKN7 と N87 細胞にて、siRNA による ARID1A の一時的な抑制状態での EZH2 阻害剤に対する細胞活性を測定した。</p> <p>最後に ARID1A と EZH2 の共通の標的である PI3KIP1 と、それにより抑制される PI3K/AKT 経路の関与を考察するため、胃癌臨床検体における PI3K/AKT 経路関連遺伝子群の発現量を TCGA データベースから抽出した。</p>	

【結果・考案】

TCGA データベース上で ARID1A 野生型の ECC10、MKN7、NUGC4、N87 細胞は ARID1A 蛋白発現を認め、欠損型の NUGC3 と OCUM1 細胞はその発現を認めなかった。NUGC3 と MKN7 細胞の両者において、EZH2 阻害剤に対して濃度依存的に細胞活性が低下したが、特に NUGC3 細胞では、その活性抑制が顕著であった。細胞活性に優位差を認めた濃度では NUGC3 のコロニー形成が著しく減少し、選択的感受性が確認された。また、一時的に ARID1A の発現を抑制した MKN7 と N87 細胞における EZH2 阻害剤に対する細胞活性は、コントロール細胞と比べて濃度依存的に優位に低下することが確認された。以上より、胃癌細胞において ARID1A 欠損に対する EZH2 阻害の有用性が示された。

データベース解析では、ARID1A 欠損胃癌で PI3K/AKT 経路遺伝子(PIK3、AKT、mTOR、FOXO)の発現パターンがその経路の活性化の傾向を示し、さらに、EZH2 発現が低下している ARID1A 欠損胃癌では PIK3IP1 発現上昇や PI3K/AKT 経路遺伝子とその経路の抑制化の傾向を示しており、EZH2 の抑制が PI3K/AKT 経路抑制を介して、胃癌細胞増殖を抑制する可能性が推察された。

【結論】

ARID1A 欠損胃癌細胞に対する EZH2 阻害剤の選択的感受性が示唆された。

(1162/1200 文字)

学位論文審査報告書

令和2年2月3日

大学院医学研究科長様

下記の通り学位論文の審査会を行いました。その結果を報告いたします。

【審査結果要旨】

申請者氏名 山田 玲央 (消化管外科学分野)

学位論文名 EZH2 inhibitor, treatment as a synthetic lethality for ARID1A-deficient gastric cancer. (ARID1A 欠損型胃癌に対する合成致死としての EZH2 阻害剤治療)

ARID1A はクロマチンリモデリング関連タンパク質でがん抑制遺伝子の一種である。卵巣がんや膀胱がんなどで効率に機能喪失型の遺伝子変異が認められる。一方、EZH2 阻害剤はヒストン H3 のリジン 27 (H3K27) のトリメチル化酵素を阻害する薬剤で、ARID1A 欠損卵巣がんにおいて合成致死効果を示し新たな抗がん戦略として注目されている。本研究では、ARID1A 欠損胃がんに対する EZH2 阻害剤の合成致死効果を検討し臨床応用の可能性を提案することを目的とした。研究は主に培養細胞を用いた *in vitro* 研究とデータベースを用いた解析から構成され、次の新規知見を得た。ARID1A 野生型および欠損型胃がん細胞株を用いて EZH2 阻害剤の効果を比較した結果、EZH2 阻害剤 3 種共に ARID1A 欠損型胃がん細胞株の細胞増殖やコロニー形成を野生型に比べて顕著に阻害した。同様に ARID1A 野生型胃がん細胞株の ARID1A 発現を siRNA 処理により低下させると、EZH2 阻害剤に対する感受性が著しく増加し、細胞増殖が有意に抑制された。また、TCGA 胃がんデータベース解析から、ARID1A 欠損型胃がんでは PI3K/AKT シグナル伝達経路が活性化する傾向にあり、さらに EZH2 発現と PI3K/AKT シグナル伝達経路が逆相関した。以上から、EZH2 阻害剤が ARID1A 欠損型胃がんの細胞増殖を効率的に抑制することを示した。

本論文は研究立案や用いた方法が適切で、得られた結果もオリジナルである。ARID1A 欠損型胃がんに対して EZH2 阻害剤が有効である可能性を示し、新しい胃がん治療戦略を提案する優れた論文で、学位に値すると評価する。

論文審査委員 主査 本間 好
副査 徳田 恵美
副査 塩 豊