

論 文 要 旨

Bromodomain protein BRD4 inhibitor JQ1 regulates potential prognostic molecules in advanced renal cell carcinoma

〔 進行腎細胞癌においてブロモドメイン蛋白 BRD4 阻害剤 JQ1 は 複数の有望な予後予測因子を制御する 〕

坂口 大

【序論及び目的】

血管新生阻害剤に代表される種々の分子標的治療薬の出現により進行性腎癌の治療戦略は大きく変化したが、治療抵抗性獲得によりその奏効率や生命予後の改善は未だに不十分である。例えばスニチニブは VEGF 受容体チロシンキナーゼ活性を阻害することで強力な血管新生抑制作用を有し、IFN α やソラフェニブと比較して高い臨床効果、生存期間の延長が報告され、進行腎癌に対する第一選択薬として広く普及している。しかしその奏効率は最大 40%程度で、やがて薬剤抵抗性が獲得されるため生命予後改善効果は数ヶ月に過ぎない。そのためスニチニブに対する治療抵抗性獲得は腎癌治療における大きな障害であり、その機序や新規治療戦略の解明が極めて重要と考えられる。

近年、様々な癌腫において転写調節因子であるブロモドメイン蛋白、特に BRD4 が注目され、その制御により初回治療のみならず治療抵抗性腫瘍においても制癌効果を認めることが報告されている。しかし現在、治療抵抗性腎癌におけるブロモドメイン阻害薬の制癌効果や癌シグナルの変化については殆ど解明されていない。本研究では、当科で樹立したスニチニブ抵抗性腎癌細胞株を用いて、最も代表的な BRD4 阻害剤である JQ1 の投与を行って、腎癌の増殖・浸潤・転移および薬剤抵抗性に関わる遺伝子やシグナル経路を解明し、新規治療戦略および治療抵抗性克服の基礎データを収集することを目的とした。

【材料及び方法】

The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベース解析により腎癌における *BRD4* の発現解析を行った。最近当科で樹立したスニチニブ耐性 786-o 腎癌細胞株 (SU-R-786-o) を含めた複数の腎癌細胞株に BRD4 阻害剤である JQ1 を投与し *in vitro* 及び *in vivo* にて機能解析を施行した。JQ1 投与前後の SU-R-786-o および 786-o 細胞の RNA シークエンス解析を行い、JQ1 により制御される遺伝子の探索を行った。また TCGA データベースを用いてそれらの遺伝子の発現と生存率や臨床病理学的事項との関連を調べた。最後にクロマチン免疫沈降法を用いて BRD4 の新規標的遺伝子の同定を行った。

【結 果】

TCGA データベース解析では *BRD4* の高発現群は有意に予後不良であることが判明した ($P = 0.0003$)。JQ1 の投与により SU-R-786-o を含めた複数の腎癌細胞株でアポトーシスおよび細胞周期の停止を介した増殖能の有意な抑制、および遊走能、浸潤能の有意な抑制が認められた。さらに SU-R-786-o 細胞および 786-o 細胞を用いた Xenograft マウスモデルでは JQ1 投与により有意に腫瘍増大が抑制された。BRD4 の既知の標的遺伝子として最も代表的な MYC も、SU-R-786-o を含めた複数

の腎癌細胞株において、JQ1 投与によりその mRNA および蛋白発現が有意に抑制された。RNA シークエンス解析及び TCGA データベースによる解析では、SU-R-786-o 細胞において JQ1 投与により癌の進展、予後に関わる複数の遺伝子が制御されており、特に *SCG5*、*SPOCD1*、*RGS19*、*ARHGAP22* は独立した全生存率の予後予測因子であることが判明した。これらの遺伝子の発現は SU-R-786-o 細胞および 786-o 細胞において JQ1 の投与により mRNA、蛋白レベルで有意に抑制された。最後にクロマチン免疫沈降を行い、SU-R-786-o 細胞において BRD4 がこれらの遺伝子のプロモーター領域に直接結合することが示された。

【結論及び考察】

BRD4 の制御は進行腎癌における初回治療だけでなくスニチニブ耐性腎癌治療においても有望な治療戦略となる可能性が示唆された。また BRD4 の新規標的遺伝子として同定した *SCG5*、*SPOCD1*、*RGS19*、*ARHGAP22* は新たな治療標的及び予後予測マーカーとなる可能性が示された。

(Oncotarget 9 (33) : 23003-17. 2018 年 掲載)