

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第	486号	学位申請者	坂口 大
審査委員	主査	古川 龍彦	学位	博士 (医学) 歯学・学術)
	副査	橋口 照人	副査	谷本 昭英
	副査	武田 泰生	副査	速見 浩士

Bromodomain protein BRD4 inhibitor JQ1 regulates potential prognostic molecules in advanced renal cell carcinoma. (進行腎細胞癌においてプロモドメイン蛋白 BRD4 阻害剤 JQ1 は複数の有望な予後予測因子を制御する)

スニチニブは VEGF キナーゼ活性を阻害することで強力な血管新生阻害作用を有し、進行腎癌に対する第一選択薬である。臨床においてはその耐性獲得が重大な問題であり、治療抵抗性腎癌に対する新規治療戦略の解明は重要である。今回、申請者らはプロモドメイン蛋白 Bromodomain containing 4 (BRD4) の転写活性機能とその阻害剤 JQ1 に着目した。BRD4 はヒストンのアセチル化リジンに結合して種々の癌遺伝子の転写を活性化する。JQ1 は BRD4 のアセチル化リジン結合ポケットに結合する拮抗阻害剤であり、様々の癌腫においてその制癌効果が報告されている。しかし腎癌における BRD4 阻害の制癌効果やそのメカニズムについては殆ど解明されていない。我々はスニチニブ耐性腎癌細胞株を用いて JQ1 の投与を行い、BRD4 阻害の制癌効果や制御される分子ネットワークの探索を行った。

The Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用いて腎癌における BRD4 の発現解析を行った。当科で樹立したスニチニブ耐性 786-o 腎癌細胞 (SU-R-786-o) を含めた複数の腎癌細胞株に JQ1 を投与し in vitro 及び in vivo にて細胞機能解析を施行した。JQ1 投与前後の SU-R-786-o 及び 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。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。また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。

その結果以下の知見が明らかにされた。

- 1) TCGA データベース解析の結果、腎臓明細胞癌患者における BRD4 の高発現群は予後不良であった。
- 2) JQ1 の投与により SU-R-786-o を含めた複数の腎癌細胞株で、アポトーシスの誘導、細胞周期停止を介した増殖能の抑制、及び遊走・浸潤能の抑制が認められた。
- 3) SU-R-786-o、786-o 細胞を用いた Xenograft マウスモデルでは JQ1 投与により腫瘍増殖抑制が認められた。
- 4) BRD4 の代表的な標的癌遺伝子である MYC は SU-R-786-o を含む複数の腎癌細胞株で、JQ1 によりその mRNA 及び蛋白の発現が抑制された。
- 5) SU-R-786-o 細胞における RNA シークエンス解析及び TCGA データベース解析では、JQ1 の投与により癌の進展・予後に関わる複数の遺伝子の発現が抑制され、特に SCG5、SPOCD1、RGS19、ARHGAP22 の高発現は独立した予後不良因子であることが判明した。
- 6) さらにこれらの遺伝子の発現は SU-R-786-o、786-o 細胞において JQ1 により mRNA、蛋白のレベルで有意に抑制されることが確認された。
- 7) クロマチン免疫沈降法により 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してその発現を制御することが示された。

本研究により、BRD4 の制御はスニチニブ耐性腎癌に対する有望な治療戦略となる可能性が示された。また BRD4 阻害により制御される分子ネットワークの探索は、進行腎細胞癌の新規治療標的や予後予測マーカーの同定に繋がることが期待できる。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。