

BAP1 変異がんにおける脱ユビキチン化酵素 USP1 の機能解析

順天堂大学大学院

臨床検査医学講座 准教授 村上（渡並） 優子

[研究の背景・目的]

遺伝子 A,B があるとき、それぞれ単独の遺伝子変異では細胞の生存に影響を及ぼさないが、両者とも変異したときに細胞死を招く場合、その二つの変異は合成致死であるという。変異の一つをがん細胞に特異的なものとした場合、もう一つの遺伝子を見つけることは、がん細胞のみを死滅させる分子標的薬の候補になる可能性がある。また、細胞死を招く分子機構を解明することにより、それぞれの遺伝子の新規機能を解明することにもつながるため、基礎医学的にも臨床医学的にも有用な戦略であると考えられる。本研究課題においてはがん抑制遺伝子 BAP1 に着目し、その変異と合成致死表現型を示す遺伝子を探索・同定した。BAP1 (BRCA1 associated protein 1) はがん抑制遺伝子であり、悪性中皮腫の約 25%、ぶどう膜黒色腫の約 45%、腎細胞がんの約 15%および乳がんや肺がん、食道がん、卵巣がんにおいて BAP1 の変異があることがわかっている。BAP1 はショウジョウバエ calyso (ユビキチン加水分解酵素) のホモログであり、polycomb repressive deubiquitinase (PR-DUB) 複合体を形成し、ヒストン H2A の脱ユビキチン化を介して転写抑制に関与する。一方、BAP1 は p53 抑制因子として知られる YY1 (Ying Yang 1)、細胞周期を制御する E2F1, p53 などの転写因子と結合し、転写を促進させるという報告もある。また、BAP1 は DNA 相同組み換え修復に関与する E3 ユビキチンリガーゼである BRCA1 (breast cancer susceptibility gene 1) や BARD1 (BRCA1 associated RING domain protein 1) と相互作用しているという報告があるが、BRCA1 を脱ユビキチン化する訳ではなく DNA 損傷応答での機能については明らかになっていない点が多い。

[研究の対象ならびに方法]

実験は主に、BAP1 変異を持つ悪性中皮腫細胞株 H28 及び H28 に BAP1 を過剰発現させ

た細胞株 (H28 BAP1) を用いた。H28 及び H28 BAP1 に 16,019 遺伝子に対応した 82,017 種類の shRNA が含まれるレンチウイルスを使った shRNA ライブラリー (SIGMA LentiPlex Pooled Whole Genome libraries) を感染させ、ゲノムを回収し、それぞれの細胞に含まれている shRNA 配列を次世代シーケンサー (MiSeq) で解析した。H28 BAP1 に含まれ、H28 に含まれないものを候補遺伝子とした。

[研究結果]

最初に細胞株でのスクリーニングを行った。そこで得られた候補遺伝子の中に、脱ユビキチン化酵素である USP1 が含まれていた。そこで、BAP1 変異株および過剰発現株において、個別に USP1 shRNA を用いてノックダウンすることで表現型を確認した。また、非足場依存性増殖においても同様の表現型を示すことを確認した。さらに、USP1 の阻害剤である ML323 を用いても同様の表現型を示すことを確認した。

次に、BAP1 も USP1 も共に脱ユビキチン化酵素であるため、共通の標的があるかどうかを探索した。予備的な結果ではあるが、USP1 の標的として知られている FANCD2 を BAP1 が脱ユビキチン化するという結果が得られている。

[考察]

USP1 のノックダウンが BAP1 変異がんに関して合成致死表現型を示すことを個体でも示すかどうかを検討するために、担がんマウスを用いた実験を行う予定である。その際には ML323 および膜透過性核酸を利用する予定である。また、BAP1 と USP1 の共通の標的であり、合成致死表現型を示す原因が FANCD2 の脱ユビキチン化にあるのか、または別の標的が存在するのかについても検討を続けたいと考えている。

[文献]

なし

[論文発表]

なし