

報道関係各位

2019年11月6日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「ARID1A欠失は胆管癌の悪性を促し、ヒストン修飾を介して幹細胞遺伝子の発現亢進に働く」 — 肝内胆管癌治療薬の新しい標的を発見 —

【ポイント】

- 胆管癌において、エピジェネティック制御遺伝子^{*1}の異常が高頻度に認められますが、その分子機構はまだまだ解明されていません。
- 本研究グループは、エピジェネティック制御遺伝子の一つである ARID1A の発現低下が肝内胆管癌の悪性化に関与していることを見出しました。
- ARID1A はヒストン脱アセチル化酵素 HDAC1 と結合し、ヒストン修飾^{*2}を介して幹細胞遺伝子^{*3}の発現を抑制することで、癌に対して抑制的に働くことを世界に先駆けて明らかにしました。
- 本研究結果により、ARID1A によるヒストン修飾異常を標的とした新規治療法の開発が期待されます。

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 分子腫瘍医学分野の田中真二教授、秋山好光講師、島田周助教、吉野潤大学院生の研究グループは、同ウイルス制御学の山岡昇司教授、同肝胆膵外科学分野の田邊稔教授との共同研究により、胆管癌において ARID1A の欠失が、幹細胞遺伝子の ALDH1A1 の発現を亢進し、胆管癌の悪性度に関連していることを世界で初めて明らかにしました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)「次世代がん医療創生研究事業」(P-CREATE)、高松宮妃癌研究基金研究助成金等のもとにおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 *Carcinogenesis* (カルシノジェネシス) に 2019 年 10 月 30 日 (英国時間) にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

胆道癌は世界的に増加傾向で、特に日本を含むアジアで発症頻度が高い悪性腫瘍です。発生部位により肝内胆管癌、肝外胆管癌、胆嚢癌に分けられ、それぞれ異なった遺伝学的背景や臨床経過を呈します。肝内胆管癌は胆道癌の約 10% を占め、その悪性度は高く、切除後 5 年生存率は 25-35% です。現在、胆道癌に対して有効な薬剤は少なく、新たな治療薬の開発が待ち望まれています。

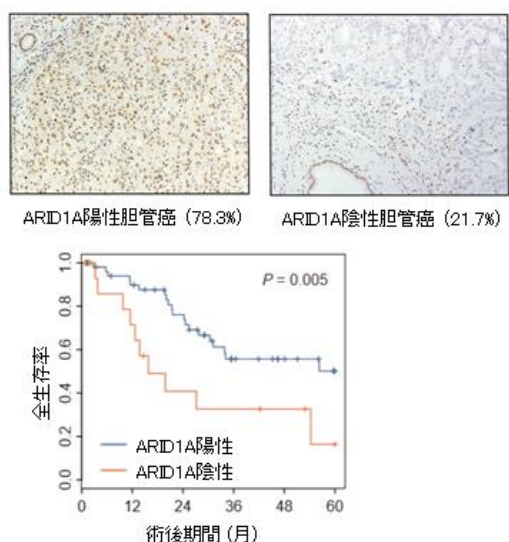
胆道癌の大規模遺伝子解析の結果、エピジェネティック制御遺伝子の異常が高頻度に認められており、特に ARID1A 変異の割合は約 11% を占め、TP53, KRAS 続いて 3 番目に頻度が高いことが報告されています (Nakamura et al. *Nat Genet*, 2015)。しかしながら、胆道癌における ARID1A 欠失による分子機構はよくわかっていません。

本研究グループは胆道癌における ARID1A の発現異常と臨床病理学的諸性状との関連を調べ、ARID1A 発現低下は肝内胆管癌患者の予後に関与していることを明らかにしました。さらに、ARID1A ノックアウト胆管がん細胞株を用いた機能解析から、ARID1A がヒストン脱アセチル化酵素と複合体を作り、ヒストン修飾を介して幹細胞遺伝子の発現調節に働いていることを見出しました。

【研究成果の概要】

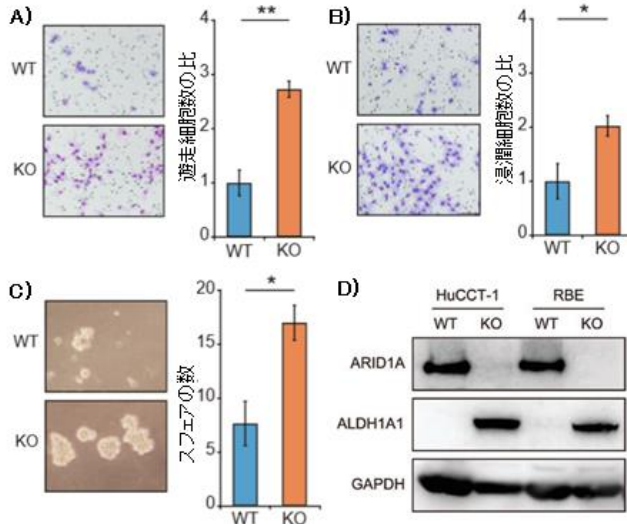
本研究では、胆道癌の臨床症例を用いた解析で ARID1A 発現の陰性症例が胆道癌 120 例中 21 例(17.5%)で認められ、その内訳は肝内胆管癌が 15/69 例 (21.7%)、肝外胆管癌が 4/34 例 (11.8%)、胆嚢癌は 2/17 例(11.8%)であり、ARID1A 発現欠失は肝内胆管癌で最も多くみられました(図 1)。ARID1A 発現と臨床病理学的諸性状との関連を検討した結果、予後因子のみに有意差が認められ、ARID1A 陰性胆管癌群は陽性群に比べて予後が不良でした($P=0.005$) (図 1)。

図1. 胆管癌臨床検体におけるARID1A発現



肝内胆管癌の臨床検体では 69 例中 15 例(21.7%)で ARID1A の発現が低下しており(上図)、ARID1A 陰性群の予後は ARID1A 陽性群と比べて有意に悪化していた(下図)。

図2. ARID1Aノックアウト胆管癌細胞株を用いた機能解析



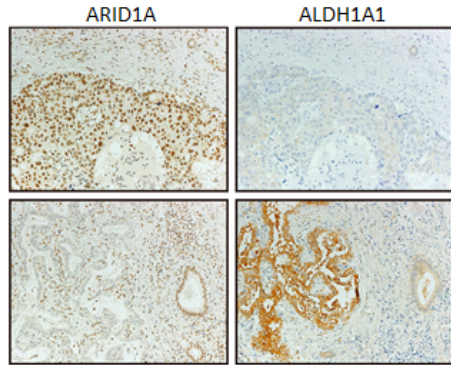
HuCCT-1胆管癌細胞株でARID1Aをノックアウト(KO)すると、細胞遊走能(A)、浸潤能(B)および幹細胞性に関するスフェア形成能(C)が有意に亢進した(* $P<0.05$; ** $P<0.01$)。2種類のARID1A-KO胆管癌細胞では、幹細胞遺伝子ALDH1A1発現がタンパク質レベルでも顕著に増加した(D)。

胆管癌における ARID1A 欠失の生物学的意義を調査するため、ゲノム編集法を用いて ARID1A ノックアウト胆管癌細胞株を作成しました。ARID1A ノックアウト株の遊走能、浸潤能とスフェア形成能は ARID1A 野生型細胞に比べて有意に高く、ARID1A 欠失は胆管癌の悪性度亢進に関与することが明らかになりました(図 2)。さらに網羅的遺伝子発現およびシグナル経路解析により、ARID1A ノックアウト細胞では幹細胞性や浸潤亢進に関わる複数の遺伝子群が同定され、その中でも幹細胞遺伝子である ALDH1A1^{*4} の発現亢進が最も大きな変化でした。

ARID1A ノックアウト細胞では、ALDH1A1 遺伝子のプロモーター領域のヒストン H3 の 27 番目リジン(K27)のアセチル化 (H3K27ac)レベルが野生型細胞に比べて強く、ALDH1A1 の発現亢進にはヒストンアセチル化^{*5}の増強が関与することが分かりました。一方、ARID1A 存在下では、ARID1A はヒストン脱アセチル化酵素 HDAC1 と結合して複合体を作りました。さらに ARID1A・HDAC1 複合体によるヒストン脱アセチル化の促進により、ALDH1A1 遺伝子のプロモーター領域の H3K27ac レベルが減少することが示唆されました。臨床検体を用いた解析でも同様に ALDH1A1 と ARID1A との

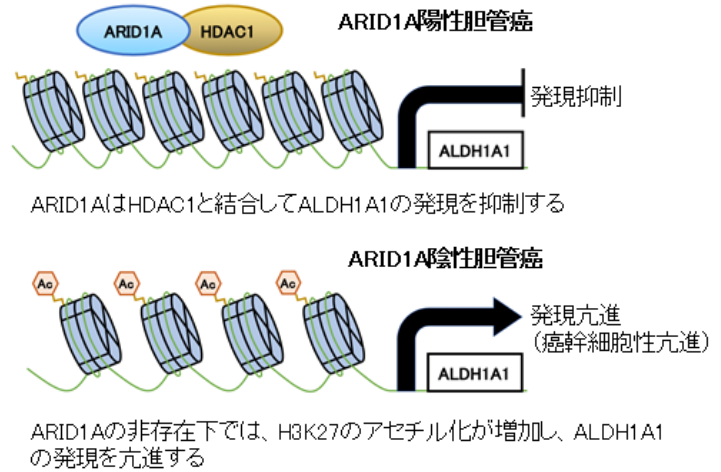
発現は逆の関係であり($P=0.018$)、ARID1A 陰性かつ ALDH1A1 陽性群はそれ以外の症例群に比べて有意に予後不良でした。 $(P=0.002)$ (図 3)。

図3. 胆管癌組織ではARID1AとALDH1A1の発現が逆相関する



胆管癌患者の組織検体において、ARID1AとALDH1A1発現は逆相関した。このタイプの胆管癌患者の予後は特に悪いことが明らかとなった。

図4. ARID1A陰性胆管癌における癌幹細胞性亢進メカニズム



【研究成果の意義】

本研究では、肝内胆管癌において ARID1A の発現低下が悪性化に関与していることを見出しました。そして、ARID1A は HDAC1 と結合してヒストン脱アセチル化を促進させ、ALDH1A1 発現を抑制していることが明らかになりました(図 4)。ARID1A が欠失した胆管癌ではヒストンアセチル化レベルが高く、ALDH1A1 の発現亢進によって幹細胞性が増強するという機序が示唆されました(図 4)。本研究成果により、ARID1A によるヒストン修飾異常を標的とした新規治療法の開発が今後期待されます。

【用語解説】

*1 エピジェネティック制御遺伝子

エピジェネティクスは DNA 塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現の制御機構を示す。この機構は DNA メチル化、ヒストン修飾およびクロマチンリモデリングの3つが主要な因子であり、複数の制御遺伝子によって構成されている。胆道癌では ARID1A, BAP1, ARID2, PBRM1 などのエピジェネティック制御遺伝子が報告されている。

*2 ヒストン修飾

ヒストン修飾は、ヒストン分子の N 末側のヒストンテールと呼ばれる突出した領域内の特定のアミノ酸残基がメチル化、アセチル化、リン酸化などの様々な翻訳後化学修飾を受けることを示し、遺伝子発現制御、染色体・クロマチンの構造維持など多岐に渡って重要な役割を果たしている。また、遺伝子プロモーター領域のヒストン修飾状態は遺伝子発現に強く関与している。

*3 幹細胞遺伝子

幹細胞は自己複製能と様々な細胞に分化できる能力(多分化能)を持つ細胞で、発生や再生などの根幹を担う。このような幹細胞では、特異的に発現する ALDH1A1, CD133 などの遺伝子群(幹細胞遺伝子)が同定されている。近年、癌細胞集団の中に幹細胞性を持つ特殊な細胞、いわゆる”癌幹細胞”が存在することが報告されており、発癌、再発、転移、治療抵抗性などにおける重要性が示唆されている。

*⁴ALDH1A1 遺伝子

ALDH1A はレチナールの酸化によってレチノイン酸を作り出すアルデヒド脱水素酵素の1つであり、様々な組織の分化に関わる幹細胞マーカーの一つと言われている。ALDH1A は ALDH1A1、ALDH1A2、ALDH1A3 の種類に分けられる。最近の研究では、ALDH1A1 は幹細胞マーカーだけでなく、他の癌では ALDH1A1 発現が幹細胞性亢進に働くことも報告されている (Ciccone et al. *Clin Cancer Res*, 2018)。

*⁵ヒストンアセチル化

ヒストンのアセチル化状態はヒストンアセチル基転移酵素またはヒストン脱アセチル化酵素(HDAC1 など)によって触媒・維持されている。ヒストンアセチル化として、ヒストン H3 の 27 番目のリジン残基のアセチル化修飾 (H3K27ac) が代表的であり、活性化している遺伝子領域では H3K27ac レベルが高い。一方、ヒストン脱アセチル化は修飾されたアセチル基を取り去るため、アセチル化レベルが低下する。

【論文情報】(英文で記載)

掲載誌: Carcinogenesis

論文タイトル: Loss of ARID1A induces a stemness gene *ALDH1A1* expression with histone acetylation in the malignant subtype of cholangiocarcinoma

<https://doi.org/10.1093/carcin/bgz179>

【研究者プロフィール】

田中 真二 (タナカ シンジ) Tanaka Shinji

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 教授

・研究領域

難治性癌(肝胆膵癌、スキルス胃癌など)の解析と治療開発

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 秋山 好光(アキヤマ ヨシミツ)

田中 真二(タナカ シンジ)

TEL:03-5803-5184 FAX:03-5803-0125

E-mail: yakiyama.monc@tmd.ac.jp
tanaka.monc@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務秘書課広報係
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272
E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp