



国立研究開発法人

国立がん研究センター

National Cancer Center Japan

報道関係各位

**SMARCB1 遺伝子欠損型の小児・AYA 世代のがんに  
有望な治療標的と阻害剤を発見  
新たに開発した網羅的な創薬標的探索方法により難治性がんの治療開発の加速が期待**

2024 年 6 月 26 日

国立研究開発法人国立がん研究センター

**発表のポイント**

- 小児・AYA 世代に好発する希少がんであるラブドイド腫瘍や類上皮肉腫など遺伝子欠損異常があるがんの治療標的として有望な 2 つのタンパク質を発見し、これらを 1 つの阻害剤で同時に抑制することで、細胞株モデルでの実験結果から既存薬よりも高い有効性が期待できることが明らかになりました。
- これらの研究成果は、研究グループが新たに考案した、タンパク質構造の類似性から 1 つの阻害剤で 2 つの標的を同時に抑制できるという創薬標的探索法“パラログ同時阻害法”を用いています。
- SMARCB1 遺伝子が欠損しているがんでは、細胞死(アポトーシス)を抑制する遺伝子が特異的に発現することでがん細胞が有利に増殖できるようになりますが、今回発見した治療標的を 1 つの阻害剤で同時に抑制することによってアポトーシスが促進される機序を解明しました。
- 今後“パラログ同時阻害法”の改良を重ね、より大規模な創薬標的探索基盤を構築することで、治療法の確立されていない難治性がんの治療標的の探索や治療開発が加速することが期待されます。

**概要**

国立研究開発法人国立がん研究センター(理事長:中釜 斉、東京都中央区)研究所(所長:間野 博行)がん治療学研究分野の荻原 秀明分野長、佐々木 麻里子研究員を中心とする共同研究グループは、ラブドイド腫瘍や類上皮肉腫などに特徴的な SMARCB1 欠損型遺伝子異常のあるがんに対して、CBP と p300 という 2 つのタンパク質を新たな治療標的とし、1 剤で同時に阻害することが有望であることを発見しました。従来は、2 つの因子を阻害するには、それぞれの阻害剤を併用する必要がありましたが、本研究では、新たに考案した”パラログ同時阻害法”を用いることで、CBP と p300 を治療標的として同定し、また CBP と p300 が類似した構造のタンパク質同士(パラログ)であることを利用し 1 剤で同時に抑制することを可能としました。

また、本研究で発見した CBP/p300 の同時阻害剤は、これまでに SMARCB1 欠損型類上皮肉腫の治療薬として米国で承認され、国内でも医師主導治験が行われている EZH2 阻害薬よりも高い有効性を期待できることが細胞株モデルでの実験結果で得られました。

“パラログ同時阻害法”の改良を重ね、より大規模な創薬標的探索基盤を構築することで、治療法の確立されていない遺伝子欠損型の遺伝子異常を持つ小児・AYA 世代のがんや希少がんなどの難治性がんの治療標的の探索や治療開発が加速することが期待されます。

本研究の成果は、2024 年 6 月 5 日付で英国科学誌「Nature Communications」に掲載されました。

本研究は、住友ファーマ株式会社リサーチディビジョンがん創薬研究ユニットの大坪 嗣輝研究員、加藤 大輝研究員、村上 果林研究員、国立がん研究センター中央病院病理診断科の吉田 裕医員、国立がん研究センター研究所がん治療学研究分野の高瀬 翔平研究員らによる共同研究です。

## 背景

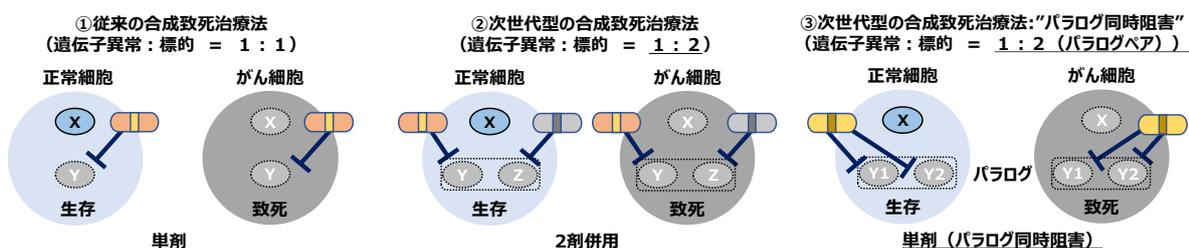
ラブドイド腫瘍<sup>注1</sup>や類上皮肉腫<sup>注2</sup>は日本における小児がんやAYA世代(Adolescent&Young Adult(思春期・若年成人)の略)のがんの中でも希少ながんであり、予後の悪いがんです。これらのがんは遺伝子の発現を制御するタンパク質に関する *SMARCB1* 遺伝子に欠損型の異常が原因となっています。

ラブドイド腫瘍や類上皮肉腫のような欠損型遺伝子異常をもつがんには、合成致死性を利用したがん治療法(合成致死治療法)が有望です。合成致死性とは、細胞内に2つの遺伝子がある場合に、片方の遺伝子のみが抑制された場合には細胞は死なないが、2つの遺伝子が両方とも抑制された場合に細胞が死滅する現象です。従来の阻害薬の開発は1つの遺伝子異常に対して1つの標的を1つの阻害薬で治療することが一般的ですが(図1①)、1つの標的を探す研究方法は成熟した状況にありました。そこで、新しい標的を見つける方法として、1つではなく、2つの標的を同時に抑制する方法が考えられます(図1②)。しかし、別々の標的を阻害する場合、それぞれに阻害剤の使用が必要となります。臨床開発の中で新しい2つの阻害剤による試験を検討する必要があるため、阻害剤併用による試験計画の煩雑性や副作用などの問題が生じやすいことが懸念されていました。

そこで研究チームは、標的とするタンパク質の構造的な相同性(パラログであること)を利用して2つのタンパク質を1つの阻害剤で同時に抑制する方法“パラログ同時阻害法”<sup>注3</sup>を考案しました(図1③)。

本研究では、*SMARCB1* 欠損がんに有望な治療標的を見つけるために、*SMARCB1* 欠損型のがん細胞では細胞死が起こるが、正常な細胞では細胞死が起こらない、すなわち、合成致死性を示すパラログペアとなる2つの標的タンパク質を探索しました。

図1. 従来型と次世代型の合成致死治療法

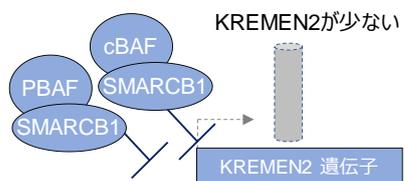


## 研究成果

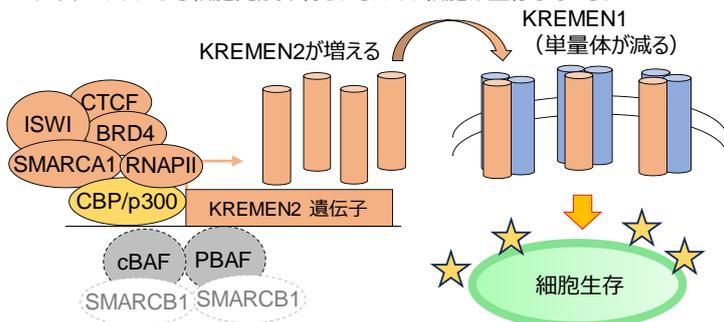
*SMARCB1* 欠損型遺伝子異常をもつがんに有望な合成致死標的として、CBPとp300のパラログペアを発見しました。CBP/p300阻害剤は、従来ラブドイド腫瘍や類上皮肉腫に使用されているEZH2阻害薬よりも高い有効性を示し、その作用機序も明らかにしました。

## 図 2. SMARCB1 欠損がんにおける CBP/p300 の作用機序

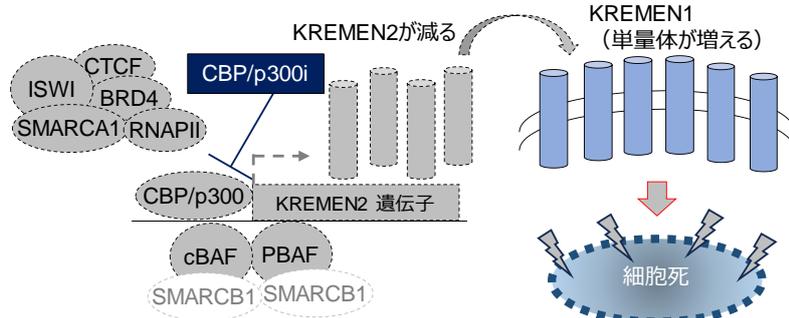
① SMARCB1 正常型細胞では、SMARCB1 が KREMEN2 の発現を抑制している



② SMARCB1 欠損型細胞では、SMARCB1 の欠損により CBP/p300 が KREMEN2 の発現を促進し、KREMEN1 の単量体化が抑制されることで、アポトーシスによる細胞死が抑制されるため、細胞は生存している。



③ SMARCB1 欠損型細胞において、CBP/p300 を同時阻害すると KREMEN2 の発現が抑制されることによって、KREMEN1 の単量体化が促進されることで、アポトーシス誘導による細胞死がおこる。



**SMARCB1 正常型細胞:** SMARCB1 は、KREMEN2 遺伝子の転写制御領域でクロマチン構造を閉じた状態にすることで、KREMEN2 遺伝子の発現を抑制しています。このとき、CBP/p300 は、KREMEN2 遺伝子の転写制御領域に局在することができません。そのため、SMARCB1 正常型細胞で、CBP/p300 を同時阻害しても細胞死が誘導されないと考えられました(図 2①)。

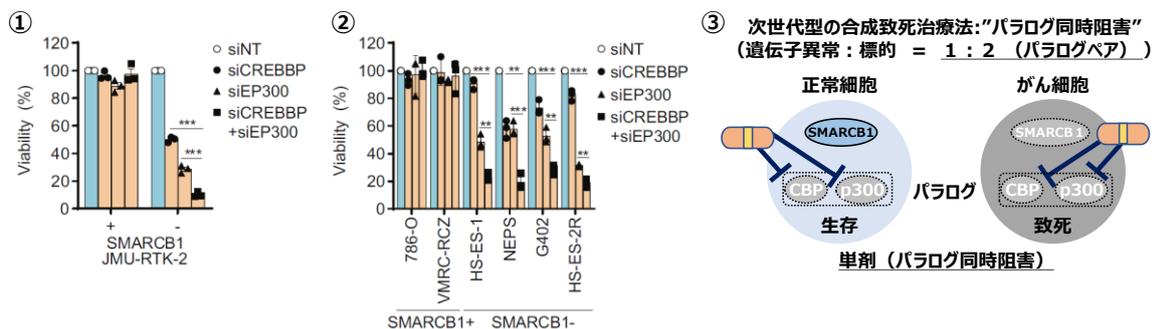
**SMARCB1 欠損型細胞:** SMARCB1 が欠損すると、KREMEN2 遺伝子座の転写制御領域に CBP/p300 が局在することでクロマチン構造が開かれることで、KREMEN2 遺伝子の発現を促進します。このとき、KREMEN2 は、KREMEN1 の単量体化を防止することでアポトーシスを抑制するようになります(図 2②)。このとき、SMARCB1 欠損型細胞は、CBP/p300 および KREMEN2 の発現に依存した状態になっているため、CBP/p300 を同時阻害すると、KREMEN2 の発現が抑制されることで、KREMEN1 の単量体化が起こります。このとき、アポトーシスの抑制が解除されて、結果としてアポトーシスによる細胞死が誘導されると考えられました(図 2③)。

## 研究成果の詳細

### SMARCB1 欠損型がんに有望な合成致死標的として、CBP/p300 パラログペアを発見した

SMARCB1 欠損型細胞株モデルを構築し、クロマチン制御遺伝子におけるパラログペアの 2 つの遺伝子を同時に抑制することで、SMARCB1 欠損型細胞では致死となるが、SMARCB1 正常型細胞では生存に影響がない、すなわち、合成致死性を示すパラログペア遺伝子を探索しました。その結果として、ヒストンアセチル化酵素をコードする CBP (CREBBP) と p300 (EP300) のパラログペア遺伝子を同定しました。SMARCB1 欠損型細胞において、CBP あるいは p300 を単独で抑制すると、部分的に増殖が抑制されますが、CBP と p300 を同時に阻害すると致死性を示すことを発見しました(図 3①②③)。

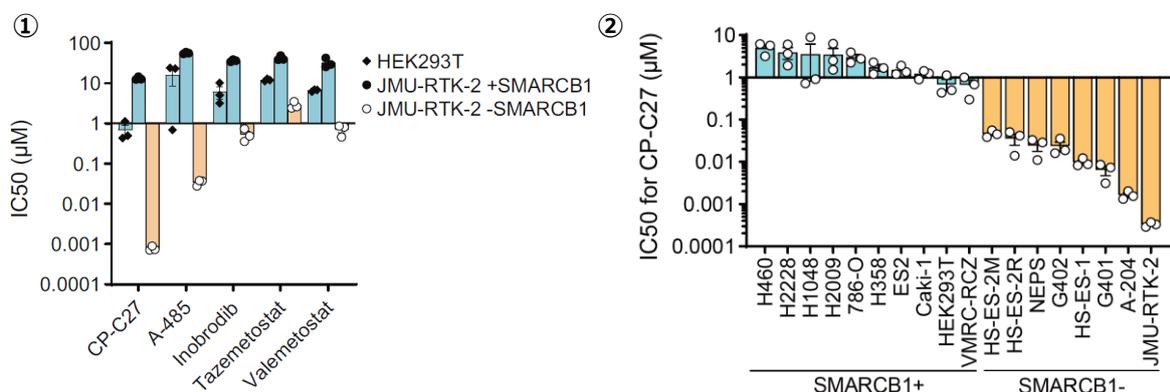
図 3. CBP/p300 パラログペアの同時阻害による合成致死性



### CBP/p300 阻害剤は、SMARCB1 欠損型がん細胞に高い有効性を示す

既存の CBP/p300 阻害剤 CP-C27 を用いて、阻害剤による SMARCB1 欠損型細胞への有効性を確認するために、薬剤感受性試験を検討しました。その結果、SMARCB1 欠損型細胞は、SMARCB1 正常型細胞に比べて、100 倍以上選択性が高い (IC50 が低い) ことがわかりました(図 4①②)。さらに、CBP/p300 阻害剤は、SMARCB1 欠損型類上皮肉腫の既存薬よりも高い効果を示すことがわかりました(図 4①)。

図 4. CBP/p300 パラログペアの同時阻害剤の薬剤感受性

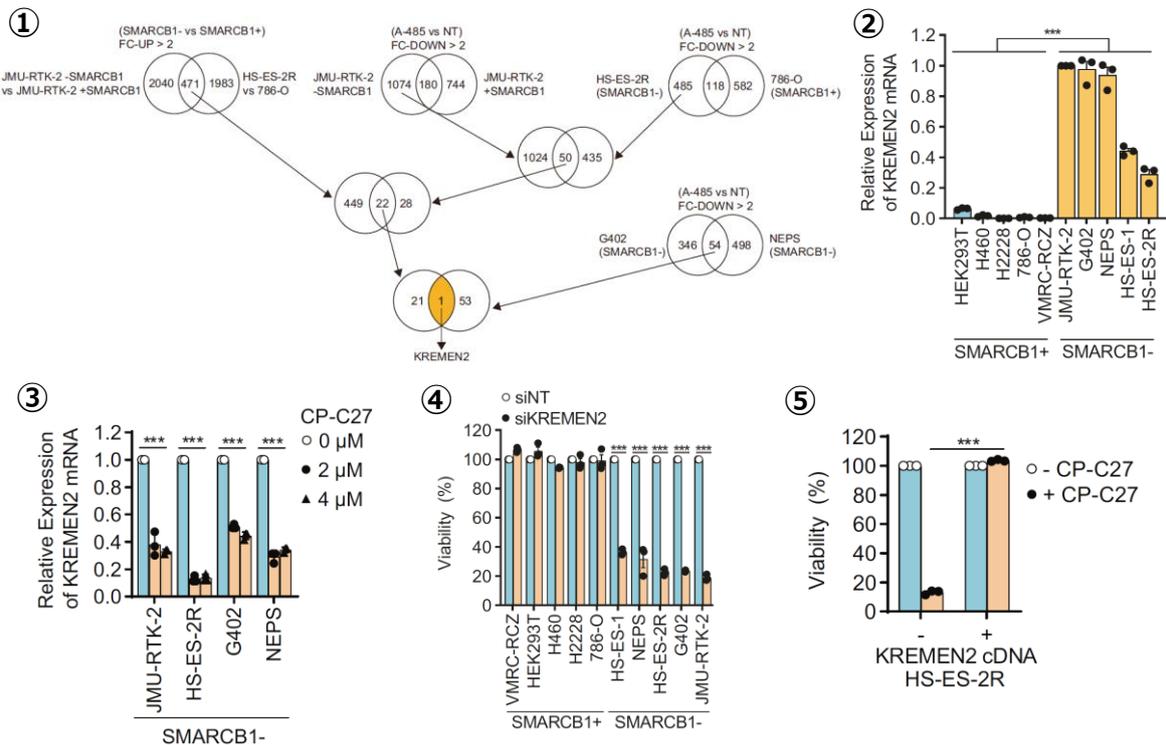


### 合成致死性を決定づける下流因子として KREMEN2 遺伝子を発見した

SMARCB1 は、SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体として、様々な遺伝子の転写を促進したり、抑制したりする働きがあります。一方で、CBP/p300 は、ヒストンアセチル化酵素であり、様々な遺伝子の転写を促進する働きがあります。そこで、SMARCB1 欠損型細胞において、CBP/p300 を同時に阻害

すると、どのような作用機序で合成致死性になるかを検討しました。私たちは、網羅的遺伝子発現解析を用いて、SMARCB1 の欠損によって発現が増加する遺伝子の中で、CBP/p300 の阻害によってその発現が抑制される遺伝子を探索しました。その結果、*KREMEN2* 遺伝子を同定しました(図 5①②③)。*KREMEN2* を抑制すると、*SMARCB1* 正常型細胞では増殖抑制は起こりませんが、*SMARCB1* 欠損型細胞では増殖抑制が起こる、すなわち、合成致死性を示すことがわかりました(図 5④)。また、*SMARCB1* 欠損型細胞における CBP/p300 同時阻害による細胞死が、*KREMEN2* 遺伝子の発現を補うことで細胞死が回避される(図 5⑤)ことから、*KREMEN2* は合成致死性の決定因子であることがわかりました。

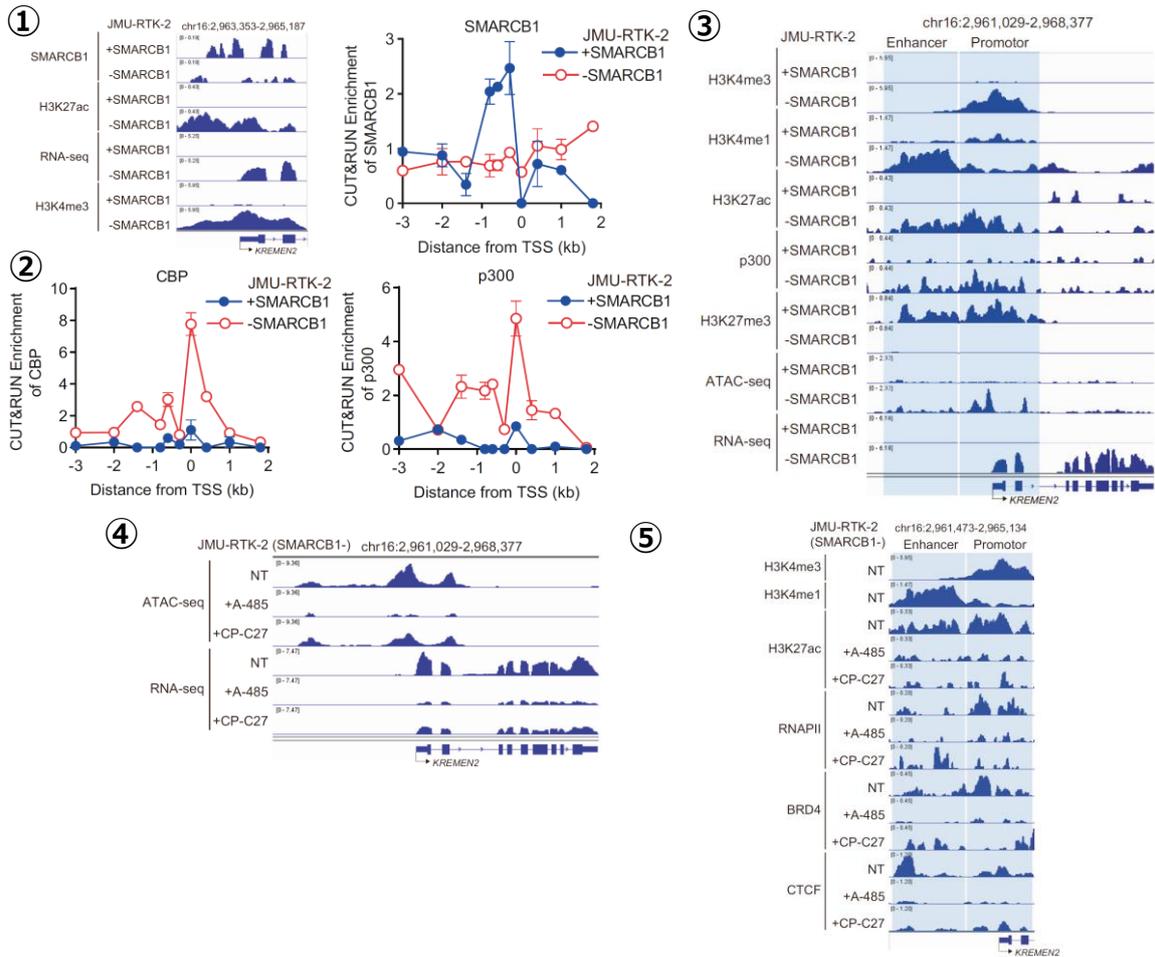
図 5. 合成致死性の決定因子として *KREMEN2* を同定



### SMARCB1 と CBP/p300 による *KREMEN2* の遺伝子発現制御の分子メカニズムを解明した

*KREMEN2* の遺伝子発現制御の分子メカニズムを明らかにするために、CUT & RUN-seq によるクロマチン局在解析や ATAC-seq によるクロマチン構造解析などのクロマチン解析手法を用いて検討しました。SMARCB1 は SWI/SNF クロマチンリモデリング複合体として、*KREMEN2* 遺伝子座の転写制御領域に局在することで、*KREMEN2* 遺伝子の転写を抑制していました(図 6①)。一方で、SMARCB1 が欠損することによって、CBP と p300 の両方が *KREMEN2* 遺伝子座の転写制御領域に局在することで、*KREMEN2* 遺伝子の転写が促進されることがわかりました(図 6②③)。さらに、CBP と p300 を同時阻害すると、*KREMEN2* 遺伝子座の転写制御領域における転写因子の局在が抑制されることで、*KREMEN2* 遺伝子の転写が抑制されることがわかりました(図 6④⑤)。その結果として、合成致死性が誘導されると考えられました。

図 6. SMARCB1 および CBP/p300 による *KREMEN2* 遺伝子の転写制御機構



### KREMEN2 の抑制によって誘導される細胞死経路を特定した

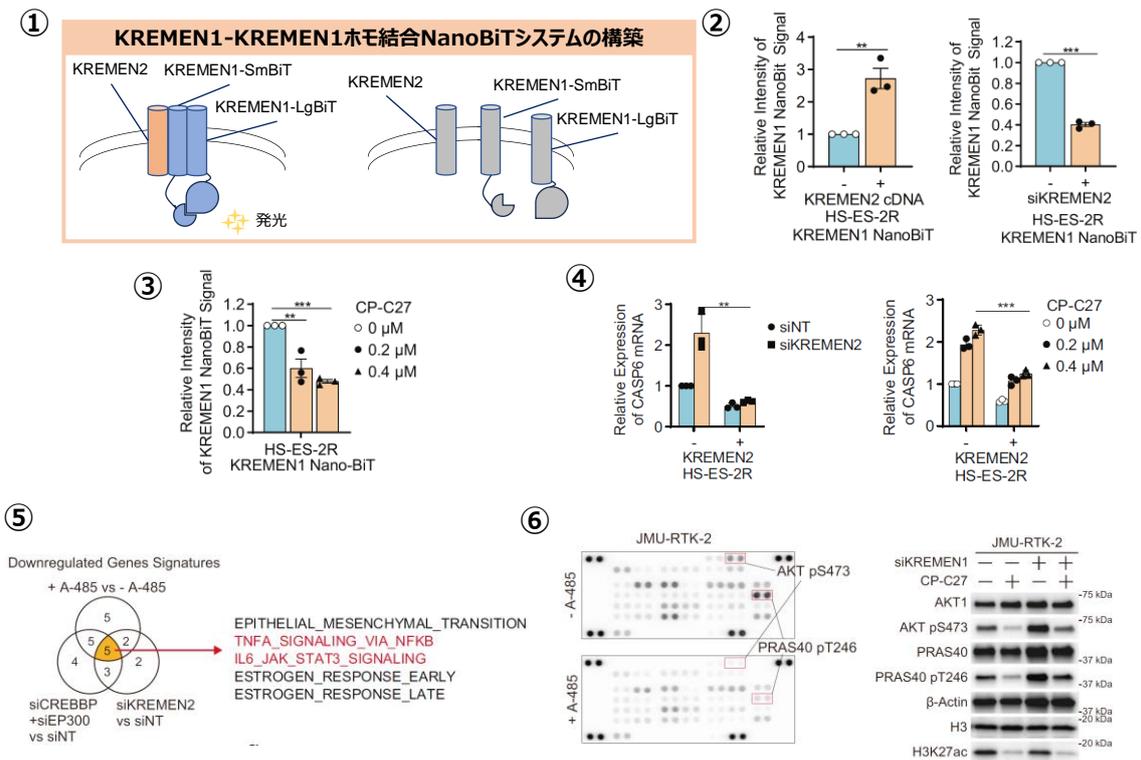
これまでの結果から、*SMARCB1* 欠損型細胞において、CBP/p300 を同時阻害したとき、*KREMEN2* の発現が抑制されることで、細胞死が誘導されることを明らかにしました。そこで、*KREMEN2* の発現抑制によって、どのような分子メカニズムによって細胞死が誘導されるかを検討しました。これまで、*KREMEN2* は膜タンパク質であり、*KREMEN1* という別の膜タンパク質と結合すること、*KREMEN1* タンパク同士が結合することが分かっていました。また、*KREMEN2* はアポトーシス抑制タンパク質であり、*KREMEN1* はアポトーシス促進タンパク質であることも分かっていました。しかし、*KREMEN2* と *KREMEN1* の相互作用とアポトーシスの制御機構は明らかになっていませんでした。

そこで、タンパク質同士の相互作用（結合）を発光シグナルで定量的に検出する実験手法である NanoBit システム<sup>注4</sup>を応用して *KREMEN1* 同士の結合を定量的かつ簡便に検出できるアッセイ系を構築しました(図 7①)。 *KREMEN2* が増加すると *KREMEN1* 同士の結合を促進することでアポトーシスが抑制されること、*KREMEN2* が減少 (CBP/p300 を同時阻害) すると *KREMEN1* が単量体化することでアポトーシスを促進することを明らかにしました(図 7②③④)。

さらに、*SMARCB1* 欠損型細胞において、CBP/p300 を同時阻害したときに、どのような分子経路を経てアポトーシスが誘導されるかを検討するために、CBP/p300 の同時阻害および *KREMEN2* の抑制で共通して変動する遺伝子とタンパク質について、網羅的遺伝子発現解析に基づいた GSEA (Gene

Set Enrichment Analysis) 解析およびリン酸化タンパク質抗体アレイ解析を行いました。これらの解析の結果、CBP/p300 の同時阻害に伴う KREMEN2 の発現抑制によって、IL6-JAK-STAT3 経路、TNF  $\alpha$  NF  $\kappa$ B 経路、PI3K-AKT 経路によるアポトーシス抑制が解除された結果として、アポトーシスが誘導されることを明らかにしました(図 7⑤⑥)。

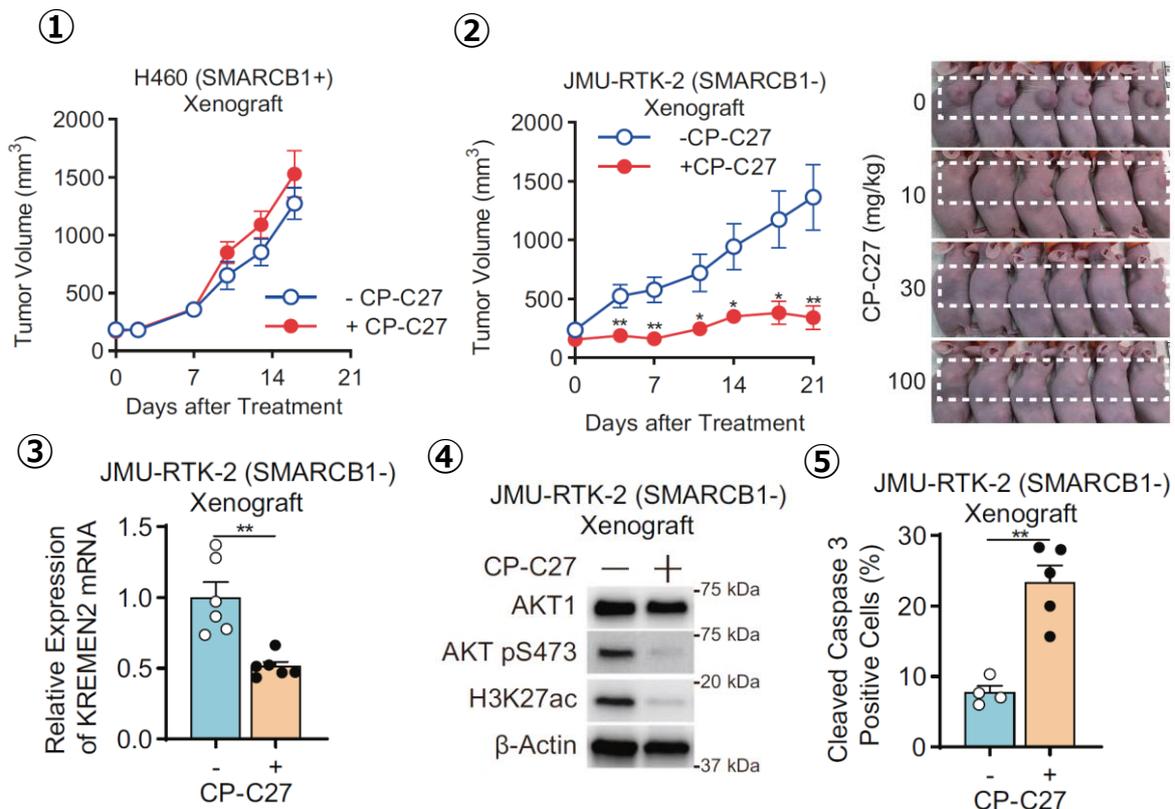
図 7. SMARCB1 欠損型細胞における CBP/p300 の阻害に伴う KREMEN2 の発現低下による細胞死経路の特定



### メカニズムに基づいた CBP/p300 阻害剤の有望性を生体モデルで実証した

細胞株モデルを用いて明らかにしてきた以上の現象について、マウス移植腫瘍モデルにおける生体モデルで検証しました。CBP/p300 の同時阻害剤の投与によって、SMARCB1 正常型細胞由来のマウス移植腫瘍モデルでは、抗腫瘍効果を示しませんでした(図 8①)。一方で、SMARCB1 欠損型細胞由来のマウス移植腫瘍モデルでは、抗腫瘍効果を示すことを明らかにしました(図 8②③)。このとき、SMARCB1 欠損型の腫瘍では、KREMEN2 の発現抑制とともに、PI3K-AKT 経路の抑制、アポトーシスの誘導が、生体モデルでも確認することができました(図 8④⑤⑥)。

図 8. マウス移植腫瘍モデルにおける CBP/p300 同時阻害剤投与による抗腫瘍効果の検討



## 展望

企業と共同して、CBP/p300 の同時阻害剤の創薬開発を進め、臨床試験の実施を目指すとともに、最終的にはラブドイド腫瘍、類上皮肉腫などの *SMARCB1* 欠損型の小児がん、AYA 世代のがんの治療へ貢献できるように研究を進めていきたいと考えています。また、*SMARCB1* とは別の因子の遺伝子欠損が肺がんなどの難治性がんを高頻度に見つかっています。このようながんに対しても CBP/p300 の同時阻害剤が有望であるかについての研究も進めています。

本研究では、新たに考案した“パラログ同時阻害法”によって、有望な創薬標的を発見することができました。本研究では、対象とするパラログペア遺伝子の数を限定して標的探索を行いました。現在、対象とするパラログペア遺伝子の数を拡大して、大規模に創薬標的を探索できる方法を構築しています。今後、小児がん、AYA 世代のがんなどの希少がんだけでなく、治療法が確立されていない難治性がんにおいて、欠損型遺伝子異常をもつがんに有望な治療法の開発につなげていく研究を進めていきます。

## 論文情報

雑誌名: *Nature Communications*

タイトル: Targeting dependency on a paralog pair of CBP/p300 against de-repression of KREMEN2 in *SMARCB1*-deficient cancers

著者: 佐々木 麻里子、加藤 大輝、村上 果林、吉田 裕、高瀬 翔平、大坪 嗣輝、荻原 秀明

DOI: 10.1038/s41467-024-49063-w

掲載日: 2024 年 6 月 5 日

URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-024-49063-w>

## 研究費

国立研究開発法人日本医療研究開発機構

研究事業名: 次世代がん医療創生研究事業

研究課題名: SMARCB1 欠損がんにおける合成致死治療法の開発

研究代表者名: 荻原 秀明

住友ファーマ株式会社

研究事業名: 共同研究

研究課題名: クロマチン制御因子を標的とした新規治療法の開発

研究代表者名: 荻原 秀明

独立行政法人日本学術振興会

研究事業名: 科学研究費助成事業

研究課題名: 複数因子の同時阻害による新規治療標的探索法の開発

研究代表者名: 荻原 秀明

## 用語解説

### 注 1: ラブドイド腫瘍

ラブドイド腫瘍は、腎臓や脳など発症し、進行が速く、治療が困難な難治性がんです。日本では年間 15 人ほどの 1 歳までの乳幼児がラブドイド腫瘍と診断されています。治療法としては、がんを切除する外科療法に加え、化学療法、放射線療法が行われますが、最適な治療法は確立されていません。

### 注 2: 類上皮肉腫

類上皮肉腫は、悪性軟部肉腫の 1 種で、前腕から手の浅層などの上肢に発症する AYA 世代に好発するがんです。日本では年間 17 人ほどの AYA 世代が類上皮肉腫と診断されています。治療法としては、外科療法による完全切除が基本であり、切除不能の場合は、化学療法が行われますが、予後不良な疾患です。2020 年に、EZH2 阻害薬であるタゼメスタットが類上皮肉腫の治療薬として米国で承認されました。

### 注 3: パラログ同時阻害法

パラログとは、類似した構造をもつタンパク質です。阻害剤が標的タンパク質を特異的に抑制するのは、阻害剤が標的タンパク質にあるポケットに収まることで標的タンパク質の機能を抑制するからです。しかし、パラログな構造を持つタンパク質は、そのポケットの構造も似ているため、1つの阻害剤でパラログタンパク質同士を同時に抑制することが可能になります。この性質を応用したのがパラログ同時阻害法です。つまり、パラログ同時阻害法とは、治療標的としてパラログタンパク質を対象とすることで、1つの阻害剤で 2 つのタンパク質を同時に抑制するがん治療法です。

### 注 4: NanoBiT システム

タンパク質同士の相互作用(結合)を発光シグナルで定量的に検出する実験手法です。相互作用を見た

い 2 つのタンパク質に対して、一方には SmBiT タグ、もう片方には LgBiT タグを融合させたタンパク質を細胞内で発現させます。2 つのタンパク質が結合すると、SmBiT、LgBiT が結合できるようになり、ルシフェラーゼ活性をもつようになる。このとき NanoBiT 試薬で処理すると発光する仕組みです。

#### お問い合わせ先

- 研究に関するお問い合わせ

国立研究開発法人国立がん研究センター  
研究所 [がん治療学研究分野](#) 荻原 秀明  
電話番号:03-3547-2511(代表)  
E メール:[hogiwara@ncc.go.jp](mailto:hogiwara@ncc.go.jp)

- 広報窓口

国立研究開発法人国立がん研究センター  
企画戦略局 広報企画室  
電話番号:03-3547-2511(代表)  
E メール:[ncc-admin@ncc.go.jp](mailto:ncc-admin@ncc.go.jp)