

Title	腫瘍抑制遺伝子SMARCB1による遺伝子発現調節機構に関する研究
Sub Title	Gene expression regulation by tumor suppressor SMARCB1
Author	中山, タラント ロバート(Nakayama, Robert)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>SWI/SNF複合体は、ATP依存性にクロマチンを制御するタンパク複合体であり、細胞内の遺伝子発現を包括的に制御している。その主要なサブユニットであるSMARCB1の欠損が悪性ラブドイド腫瘍や類上皮肉腫などで報告されているが、SMARCB1の腫瘍抑制因子としての分子生物学的機能は未だに十分には解明されていない。本研究の目的は、SMARCB1の欠損した変異SWI/SNF複合体の機能異常ががん化に及ぼす影響を検討することである。</p> <p>SMARCB1欠損腫瘍細胞株にレンチウイルスを用いてSMARCB1を強制発現させ、細胞増殖能の変化を解析した。次に核内タンパクを抽出し、複合体構成の変化、および複合体とクロマチンとの相互作用の変化について生化学的に解析した。RNA-seq法による遺伝子発現解析に加え、各種抗体を用いたChIP-seq法を行い、SMARCB1の強制発現によるSWI/SNF複合体、および各ヒストンマークのゲノム上の占有部位、占有率の変化を解析した。</p> <p>強制発現したSMARCB1は直ちにSWI/SNF複合体に結合し、SMARCB1により複合体とクロマチンとの結合が安定化することを示した。ChIP-seq法では、すべての細胞株においてSMARCB1の強制発現によりSWI/SNF複合体のゲノム上の占有率が有意に増加した。SMARCB1の強制発現によりH3K27acの占有率が特異的に増加したことから、SMARCB1はSWI/SNF複合体によるエンハンサー活性化に必須であることが示唆された。また、バイバレント領域のプロモーターにおいて、SUZ12、およびH3K27me3の占有率低下を認めたことから、SMARCB1の強制発現によりSWI/SNF複合体はポリコム抑制複合体2と競合することで、バイバレント領域のプロモーターを活性化することが明らかとなった。</p> <p>以上の結果より、SMARCB1の欠損した変異SWI/SNF複合体による異常な遺伝子発現調節の分子機構が明らかとなり、SMARCB1欠損腫瘍のみならず、SWI/SNF複合体の異常による様々な疾患のさらなる病態解明が精力的に進むことが期待される。</p> <p>SMARCB1 is a core subunit of the mammalian SWI/SNF (BAF) family of ATP-dependent chromatin remodeling complexes. Loss of SMARCB1 has been identified in several cancer types, including malignant rhabdoid tumor (MRT) and epithelioid sarcoma (EpS), strongly implicating this event as the oncogenic driver in these malignancies. However, the precise mechanism underpinning the tumor suppressive function of SMARCB1 to date remains unclear.</p> <p>SMARCB1-deficient MRT and EpS cell lines were modified with a constitutive SMARCB1 expression system by lentiviral infection and their effects were evaluated at the levels of SWI/SNF complex biochemical composition, global chromatin structure, and gene regulation.</p> <p>Reintroduced SMARCB1 stably integrated into SWI/SNF complexes. Reintroduced SMARCB1 significantly suppressed the proliferation of nearly all SMARCB1-deficient cancer cell lines. Expression of each subunit varied among cell lines, however, we identified a subunit whose expression was perfectly corresponded with SMARCB1 expression. The subunit was not expressed in all SMARCB1-deficient cell lines by western blotting, upregulated upon SMARCB1 reintroduction, and integrated into SWI/SNF complexes with SMARCB1. Loss of the subunit in the tumor cells was observed in all SMARCB1-deficient tumors by immunohistochemistry. The transcript levels of the subunit did not change upon SMARCB1 reintroduction, indicating post-transcriptional regulation of the subunit.</p> <p>SMARCB1 loss destabilized SWI/SNF complexes on chromatin, with little change in complex assembly or integrity. Rescue of SMARCB1 in SMARCB1-deficient sarcoma cell lines resulted in increased genome-wide SWI/SNF complex occupancy, facilitating widespread enhancer activation and opposition of Polycomb-mediated repression at bivalent promoters.</p> <p>These results provided us with a fundamental insight into the mechanisms of other SWI/SNF complex associated diseases as well as the oncogenesis of SMARCB1-deficient cancer.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190286

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	中山 タラント ロバート	氏名 (英語)	Robert Nakayama		
研究課題 (日本語)						
腫瘍抑制遺伝子 SMARCB1 による遺伝子発現調節機構に関する研究						
研究課題 (英訳)						
Gene expression regulation by tumor suppressor SMARCB1						
1. 研究成果実績の概要						
<p>SWI/SNF 複合体は、ATP 依存性にクロマチンを制御するタンパク複合体であり、細胞内の遺伝子発現を包括的に制御している。その主要なサブユニットである SMARCB1 の欠損が悪性ラブドイド腫瘍や類上皮肉腫などで報告されているが、SMARCB1 の腫瘍抑制因子としての分子生物学的機能は未だに十分には解明されていない。本研究の目的は、SMARCB1 の欠損した変異 SWI/SNF 複合体の機能異常ががん化に及ぼす影響を検討することである。</p> <p>SMARCB1 欠損腫瘍細胞株にレンチウイルスを用いて SMARCB1 を強制発現させ、細胞増殖能の変化を解析した。次に核内タンパクを抽出し、複合体構成の変化、および複合体とクロマチンとの相互作用の変化について生化学的に解析した。RNA-seq 法による遺伝子発現解析に加え、各種抗体を用いた ChIP-seq 法を行い、SMARCB1 の強制発現による SWI/SNF 複合体、および各ヒストンマークのゲノム上の占有部位、占有率の変化を解析した。</p> <p>強制発現した SMARCB1 は直ちに SWI/SNF 複合体に結合し、SMARCB1 により複合体とクロマチンとの結合が安定化することを示した。ChIP-seq 法では、すべての細胞株において SMARCB1 の強制発現により SWI/SNF 複合体のゲノム上の占有率が有意に増加した。SMARCB1 の強制発現により H3K27ac の占有率が特異的に増加したことから、SMARCB1 は SWI/SNF 複合体によるエンハンサー活性化に必須であることが示唆された。また、バイバレント領域のプロモーターにおいて、SUZ12、および H3K27me3 の占有率低下を認めたことから、SMARCB1 の強制発現により SWI/SNF 複合体はポリコム抑制複合体 2 と競合することで、バイバレント領域のプロモーターを活性化することが明らかとなった。</p> <p>以上の結果より、SMARCB1 の欠損した変異 SWI/SNF 複合体による異常な遺伝子発現調節の分子機構が明らかとなり、SMARCB1 欠損腫瘍のみならず、SWI/SNF 複合体の異常による様々な疾患のさらなる病態解明が精力的に進むことが期待される。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>SMARCB1 is a core subunit of the mammalian SWI/SNF (BAF) family of ATP-dependent chromatin remodeling complexes. Loss of SMARCB1 has been identified in several cancer types, including malignant rhabdoid tumor (MRT) and epithelioid sarcoma (EpS), strongly implicating this event as the oncogenic driver in these malignancies. However, the precise mechanism underpinning the tumor suppressive function of SMARCB1 to date remains unclear. SMARCB1-deficient MRT and EpS cell lines were modified with a constitutive SMARCB1 expression system by lentiviral infection and their effects were evaluated at the levels of SWI/SNF complex biochemical composition, global chromatin structure, and gene regulation.</p> <p>Reintroduced SMARCB1 stably integrated into SWI/SNF complexes. Reintroduced SMARCB1 significantly suppressed the proliferation of nearly all SMARCB1-deficient cancer cell lines. Expression of each subunit varied among cell lines, however, we identified a subunit whose expression was perfectly corresponded with SMARCB1 expression. The subunit was not expressed in all SMARCB1-deficient cell lines by western blotting, upregulated upon SMARCB1 reintroduction, and integrated into SWI/SNF complexes with SMARCB1. Loss of the subunit in the tumor cells was observed in all SMARCB1-deficient tumors by immunohistochemistry. The transcript levels of the subunit did not change upon SMARCB1 reintroduction, indicating post-transcriptional regulation of the subunit.</p> <p>SMARCB1 loss destabilized SWI/SNF complexes on chromatin, with little change in complex assembly or integrity. Rescue of SMARCB1 in SMARCB1-deficient sarcoma cell lines resulted in increased genome-wide SWI/SNF complex occupancy, facilitating widespread enhancer activation and opposition of Polycomb-mediated repression at bivalent promoters.</p> <p>These results provided us with a fundamental insight into the mechanisms of other SWI/SNF complex associated diseases as well as the oncogenesis of SMARCB1-deficient cancer.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Tanaka K, Mizusawa J, Naka N, Kawai A, Katagiri H, Hiruma T, Matsumoto Y, Tsuchiya H, Nakayama R, Hatano H, Emori M, Watanuki M, Yoshida Y, Okamoto T, Abe S, Asanuma K, Yokoyama R, Hiraga H, Yonemoto T, Morii T	Ten-year follow-up results of perioperative chemotherapy with doxorubicin and ifosfamide for high-grade soft-tissue sarcoma of the extremities: Japan Clinical Oncology Group study JCOG0304	BMC Cancer	2019 Sep 6;19(1):890.			
Maeda K, Asano N, Kikuta K, Okita H, Nakamura M, Matsumoto M, Nakayama R	Classic-type epithelioid sarcoma arising from the sciatic nerve : A case report	Journal of Orthopaedic Science (JOS)	2019 Sep 16			

山口さやか, 笠原知樹, 中川瑠美, 弘實透, 浅野尚文, 八木満, 松本守雄, 中村雅也, 中山口バート	がん診療に整形外科医が求められる時代を迎えて	東日本整形災害外科学会	2019年9月
中山口バート, 加藤容崇, 中川瑠美, 弘實透, 山口さやか, 浅野尚文, 四十物絵理子, 西原広史, 中村雅也, 松本守雄	慶應義塾大学病院における骨・軟部腫瘍に対する遺伝子診断の現状と今後の展望	日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会	2019年7月
浅野尚文, 吉田朗彦, 小倉浩一, 小林英介, 岩田慎太郎, 中村雅也, 松本守雄, 中山口バート, 比留間徹, 石井猛, 川井章	表在性類上皮肉腫の臨床病理学的特徴	日本整形外科学会学術総会	2019年5月