

滑膜肉腫の標的分子の探索

太田 力

常葉大学保健医療学部理学療法学科

要 旨

滑膜肉腫は、18番染色体上に存在するSS18（別名SYT）遺伝子領域とX染色体上に存在するSSX遺伝子領域の間で起きた染色体転座によって生じるSS18-SSX（別名SYT-SSX）融合遺伝子が原因であることが知られている。これまでの解析から、我々は滑膜肉腫で発現されるSS18-SSX融合タンパク質は転写抑制化に働くことで腫瘍化に関与することを示してきた。最近、SS18タンパク質はクロマチンリモデリング因子の一つであるSWI/SNF familyに属するBAFタンパク質複合体の構成サブユニットであることが示された。BAFタンパク質複合体は転写活性化に加え、転写抑制化にも作用するため、SS18-SSX融合タンパク質も転写抑制化に加え転写活性化によっても腫瘍化に関与することが予想された。そこで、本研究では、網羅的遺伝子発現解析のデータを利用して滑膜肉腫細胞株で転写が亢進している遺伝子の中から、腫瘍細胞の増殖等に働く因子の探索を行った。その結果、多くのがんで増殖亢進・転移・浸潤などに関与していることが知られているGli1遺伝子が、滑膜肉腫でも高発現しており、腫瘍細胞の増殖亢進に関与している可能性が出てきた。

キーワード：滑膜肉腫, SS18-SSX, BAFタンパク質複合体, Smarcb1, Gli1

はじめに

滑膜肉腫（synovial sarcoma）は高悪性度軟部肉腫（5年生存率は30%～50%）に分類され、青年期に発生する組織由来不明の腫瘍である¹。滑膜肉腫は軟部組織腫瘍全体の5～10%を占め、その好発部位は四肢の関節近傍、特に膝関節周辺である。滑膜肉腫の原因は、X染色体の長腕領域（p11.2）と18番染色体の短腕領域（q11.2）の間での染色体転座t（X; 18）（p11.2; q11.2）であることが知られている²。X染色体の長腕領域（p11.2）

にはSSX（synovial sarcoma X chromosome breakpoint）遺伝子が存在し、18番染色体の短腕領域（q11.2）にはSYT（synovial sarcoma translocation, chromosome 18；最近ではSS18と表記されることが多いので以後SS18と表記する）遺伝子が存在する。滑膜肉腫では、染色体転座によって新たなSS18-SSX融合遺伝子が発現し、腫瘍発症に関与することが示されている^{3,4}。最近SS18タンパク質は、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）で見出されたクロマチンリモデ

リング因子 (Chromatin Remodeling Factors) の一つである SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable) family⁵ に属する BAF (BRG1/BRM Associated Factor) タンパク質複合体の構成サブユニットであることが示された⁶。興味深いことに、滑膜肉腫において SS18-SSX タンパク質は、SS18 タンパク質と同様に BAF タンパク質複合体の構成サブユニットとして複合体に取り込まれるが、

融合した SSX タンパク質部分が複合体の立体構造を変化させることで、BAF タンパク質複合体の他の構成サブユニットである Smarcb1 (SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator of Chromatin, Subfamily B, Member 1; 別名 INI1, hSNF5) タンパク質が、BAF タンパク質複合体に入ることができなくなることが示唆されている⁶ (図1)。

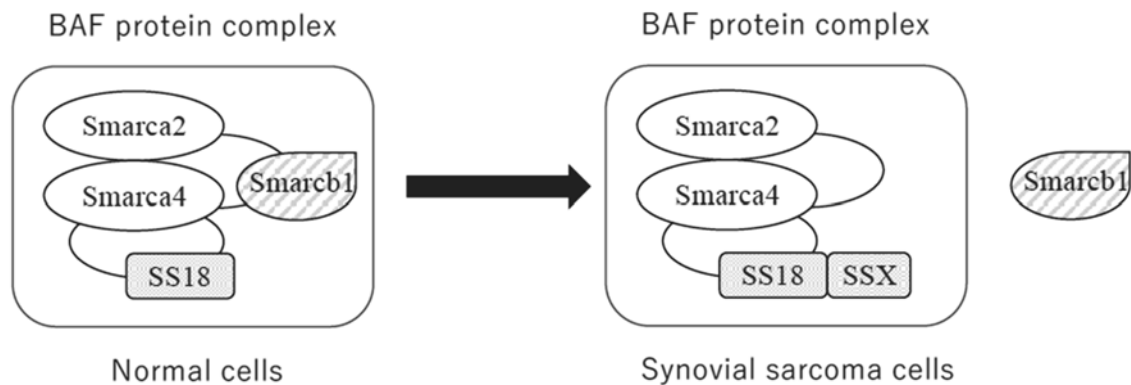


図1. 正常細胞, および, 滑膜肉腫細胞における BAF タンパク質複合体モデル

正常細胞 (Normal cells) では、SS18 タンパク質と Smarcb1 タンパク質は BAF タンパク質複合体 (BAF protein complex) の構成サブユニットとして含まれている。しかし、滑膜肉腫細胞 (Synovial sarcoma cells) では、SS18 タンパク質に SSX タンパク質が融合した SS18-SSX タンパク質は、SS18 タンパク質と同様に BAF タンパク質複合体の構成サブユニットとして複合体に取り込まれるが、融合した SSX タンパク質部分が複合体の立体構造を変化させることで、BAF タンパク質複合体の他の構成サブユニットの一つである Smarcb1 タンパク質が複合体に入ることができなくなる。BAF タンパク質複合体に入ることができなくなった Smarcb1 タンパク質は不安定化し分解される。

複数のサブユニットから構成されているクロマチンリモデリング因子 BAF タンパク質複合体は、多くの遺伝子の発現制御に関与していることが知られている⁵。BAF タンパク質複合体の ATPase 活性を持つ主要構成サブユニットである Smarca2 (別名 BRM) タンパク質や Smarca4 (別名 BRG1) タンパク質の機能が低下すると、BAF タンパク質複合体の酵素活性 (クロマチンリモデリング活性; DNA に相互作用しているヒストンタンパク質の構造変換を行う活性) が低下し、BAF タンパク質複合体が制御している多くの遺伝子の発現量に影響が出る。一方、他の

サブユニットが機能低下を起こした場合は、限られた遺伝子の発現量に影響が出ることが知られている⁵。特に、軟部悪性ラブドイド腫瘍 (Malignant Rhabdoid Tumor: MRT) などの軟部組織原発腫瘍で、Smarcb1 遺伝子の発現低下や遺伝子欠損が見つかる⁶。Smarcb1 タンパク質を欠いた BAF タンパク質複合体は、Gli1 (Glioma-Associated Oncogene Homolog 1) 遺伝子の発現抑制効果が減弱化することが知られている⁷ (結果的に、がん細胞内で Gli1 遺伝子の発現が亢進する)。Gli1 遺伝子は、神経膠腫 (Glioma) で異常な増幅が見られる遺伝子として発見さ

れ、ジンクフィンガー型 (Zinc Finger Protein) の転写因子として働き、がん細胞の増殖亢進・転移・浸潤などに関与することが知られている⁸。なお、Gli1 遺伝子は、正常細胞では胚発生時の Hh シグナル経路で働く重要な遺伝子でもあることもわかっている⁸。

滑膜肉腫細胞において、Smad3 タンパク質は BAF タンパク質複合体に入ることができずに細胞内で分解されることが示された⁶ (図1)。この図1のモデルが正しければ、滑膜肉腫細胞でも、Smad3 遺伝子の発現低下が見られる腫瘍と同様に Gli1 遺伝子の発現亢進が起こっている可能性が考えられる。

解析方法

1. 細胞株：

滑膜肉腫由来細胞株である SYO-1 株 (SS18-SSX2 発現細胞株) は、川井博士 (国立がん研究センター・中央病院) から、Fuji 株 (SS18-SSX2 発現細胞株) は、長嶋博士 (北海道大学・医学部) から、HS-SYII 株 (SS18-SSX1 発現細胞株) は、園部博士 (高知医科大学・病理部) から、それぞれ分与して頂いた。肺がん由来細胞株である A549 株、H1385 株、H1437 株 は、American Type Culture Collection (ATCC 社) から購入した。これら細胞株は、DMEM low glucose (Invitrogen 社) に、10% ウシ胎児血清 [FBS; Fetal Bovine Serum (Invitrogen)], 1% Penicillin-Streptomycin (MP Biomedicals) を添加した培地を用い、5% 二酸化炭素 (CO₂), 37°C の恒温槽で培養した。

2. DNA チップを用いた網羅的遺伝子発現解析：

サンプル調製、および、マイクロアレイ処理に使用される詳細な方法は Affymetrix (Santa Clara 社, CA, USA) から入手できる。直径 10cm シャーレに約 90% コンフルエン

ト状態に増殖した培養細胞株から精製した 5 μ g の total RNA を使用して、cRNA を T7 ポリメラーゼで直線的に増幅した後、ビオチン化 cRNA を RNeasy Mini Column (QIAGEN 社) で精製した。その後、50 ~ 200 ヌクレオチドに断片化し、Human Genome U95A ver.2 アレイ (Affymetrix 社) にハイブリダイズさせた。染色されたマイクロアレイを Gene Array Scanner (Affymetrix 社) でスキャンし、シグナルを Affymetrix software Microarray Suite 5.0 (Affymetrix 社) で計算した。全てのデータはグローバル・スケールリング法 (global scaling method) を使用してスケールリングされ、ターゲット強度を 1,000 に調整した。

3. Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) 解析：

培養細胞株から精製した 5 μ g の total RNA を使用して、first strand synthesis system (Invitrogen 社) により一本鎖 cDNA を合成した。RT-PCR は、合成酵素として PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (Takara 社) を用い、反応液 (10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 μ M dNTP), および、primer セットとして Gli1 プライマー (Gli1 human; BIO-RAD 社), B2M プライマー (B2M human; Takara 社) を使用した。PCR 反応は、95°C 10 秒間の熱変性、60°C 15 秒間のプライマーのアニーリング、67°C 30 秒間の相補鎖の合成、の 3 ステップを 30 回繰り返した。

4. Western blot (ウエスタンブロット) 解析：

直径 10 cm シャーレに約 90% コンフルエント状態に増殖した細胞を 400 μ L の抽出液 (10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 300 mM NaCl, 10% Glycerol) に懸濁した。超音波破碎器 (BRANSON 社) を用いて細胞を壊し、細胞

抽出液を作成した。10 μ g の細胞抽出液を10% SDS-ポリアクリルアミドゲル (SDS-PAGE) を用いて分子量の違いによって分離した。タンパク質を PVDF 膜に転写後、抗 Gli1 抗体 (Promega 社) を用いて western blot 法を用いて Gli1 タンパク質量の検出を行った。コントロールとして、抗 B2M 抗体 (Abcam 社) を用いた。

5. Small interfering RNA (siRNA) 解析：

20 nM の Gli1 特異的 siRNA (Silencer[®] Select siRNA; catalog #4390771; ThermoFisher 社), および、コントロール siRNA (Silencer Select Negative Control No.1 siRNA; catalog #4390844; ThermoFisher 社) を Cell-Line Nucleofector kit V (Amaxa Biosystems 社) を用いて、 1×10^6 個の SYO-1 細胞, HS-SYII 細胞, あるいは, A549 細胞にトランスフェクトした。2日間培養した後, RNA を回収し, RT-PCR を用いて Gli1 遺伝子の発現量を測定した。

6. 細胞増殖阻害解析：

1×10^6 個の SYO-1 細胞, HS-SYII 細胞, あるいは, A549 細胞に Gli1 特異的 siRNA, あるいは, コントロール siRNA をトランスフェクトした。トランスフェクトした細胞を7日間培養した後, 各細胞の数をカウントした。コントロール siRNA をトランスフェクトした細胞の数と Gli1 特異的 siRNA をトランスフェクトした細胞の数の比較を行った。なお, コントロール siRNA をトランスフェクトした細胞の数を 100% と表示した。

解析結果

1. 滑膜肉腫での標的分子の探索：

最近, 幾つかの悪性腫瘍で分子標的薬 (悪性腫瘍の細胞増殖の鍵となっているタンパク質を標的とした阻害剤) が開発され, 治療効

果を示すことがわかってきた。そこで, 我々は, 腫瘍の細胞増殖の鍵となっているタンパク質を探索することを目的として, 網羅的遺伝子発現解析技術を用いて, 滑膜肉腫で遺伝子発現が異常を起こしている (発現量が亢進, あるいは, 減少している) 遺伝子の探索を行ってきた^{9, 10}。このような解析を行っている中, 興味深い研究報告があった。滑膜肉腫では SS18-SSX 融合タンパク質の産生によって, Smarcb1 タンパク質の働きが低下するというものであった⁶(図1)。このモデル(図1)と, これまでの多くの研究報告を合わせて考えると, 滑膜肉腫でも Smarcb1 遺伝子の発現低下がみられる腫瘍と同様に, Gli1 遺伝子の発現亢進が起きている可能性が考えられた。そこで, 遺伝子発現解析に利用していた滑膜肉腫細胞株 (Synovial sarcoma cell lines), および, 肺がん細胞株 (Lung cancer cell lines) での DNA チップ解析データから, Gli1 遺伝子の発現量を抜き出してみた (図2)。

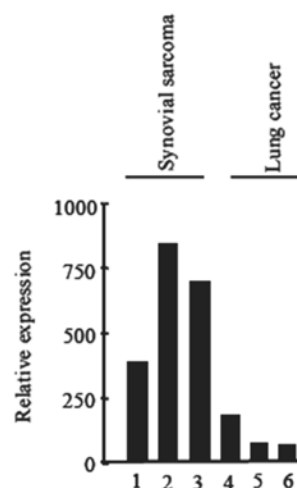


図2. 遺伝子発現解析から得られた Gli1 遺伝子の発現量

3種類 of 滑膜肉腫 (Synovial sarcoma) 細胞株 [SYO-1 株 (レーン1), HS-SYII 株 (レーン2), Fuji 株 (レーン3)], および, 3種類 of 肺がん (lung cancer) 細胞株 [A549 株 (レーン4), H1385 株 (レーン5), H1437 株 (レーン6)] の GLI1 遺伝子の発現量を示す [DNA チップ上の蛍光強度の平均を 1,000 とした場合の Gli1 遺伝子の相対発現量 (Relative expression) を示す]。

図2は、Affymetrix社のDNAチップ型遺伝子発現解析技術を用いて、3種類の滑膜肉腫細胞株と3種類の肺がん細胞株の、合計6種類の腫瘍由来細胞株でのGli1遺伝子の発現量を示したものである。肺がん細胞株でのGli1遺伝子の発現量は、これまで多くの腫瘍で解析されている結果と同様に発現量が低いことがわかった。一方、滑膜肉腫細胞株では発現量に差異はあるが、3株全てにおいてGli1遺伝子の発現量が亢進していることが判明した(図2)。

DNAチップ型遺伝子発現解析は蛍光色素を標識したRNAと、チップ上に貼り付けた短い長さのDNAとの結合量を指標に解析する技術である為、チップ上に貼り付けた短い長さのDNAの配列によっては相同性が低いRNAでも結合することが知られている(偽陽性;この場合は、発現量が実際よりも高く検出されてしまう)。従って、DNAチップ型遺伝子発現解から得られたデータは、他の方法で再度検証することが必要となる。そこで、2種類の滑膜肉腫細胞株(SYO-1株、HSSY-II株)、および、コントロール腫瘍細胞株として肺がん細胞株(A549株)におけるGli1遺伝子の発現量をRT-PCR法を用いて検証を行った(図3)。

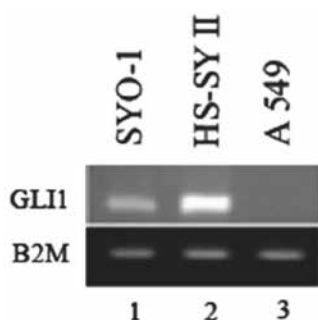


図3. RT-PCR法によるGli1遺伝子の発現量の検証
2種類の滑膜肉腫細胞株 [SYO-1株(レーン1), HS-SYII株(レーン2)], および、1種類の肺がん細胞株 [A549株(レーン3)] のGLI1遺伝子の発現量をRT-PCR法を用いて検証した。なお、コントロールとしてB2M遺伝子を用いた。各細胞から精製した5 μ gのtotal RNAを用いて一本鎖cDNAを作成し、RT-PCR法を用いて30回増幅させた。反応液の1/50量を1.5%アガロースゲルで分離後、Et-Br染色を行った。

図3から、2種類の滑膜肉腫細胞株、および、1種類の肺がん細胞株のGli1遺伝子の発現量は、DNAチップ型遺伝子発現解析のデータ(図2)と類似の結果であることが示された。従って、図2で示したGli1遺伝子の発現量は偽陽性ではないことがわかり、滑膜肉腫細胞株でGli1遺伝子の発現量が高いことが判明した。

一方、タンパク質の発現量と遺伝子(mRNA)の発現量が一致しない場合があることが多くの研究から示唆されている。そこで、RT-PCR法でGli1遺伝子(mRNA)の発現量が高いことが示された2種類の滑膜肉腫細胞株(SYO-1株、および、HS-SYII株)と、Gli1遺伝子の発現量が低いことが示された肺がん細胞株(A549株;コントロール細胞株として使用)におけるGli1タンパク質の発現量を、抗Gli1抗体を用いたウエスタンブロット(western-blot)法で検証を行った(図4)。

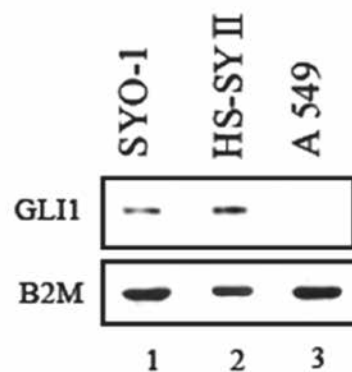


図4. Gli1タンパク質の発現量

2種類の滑膜肉腫細胞株 [SYO-1株(レーン1), HS-SYII株(レーン2)], および、1種類の肺がん細胞株 [A549株(レーン3)] のGLI1タンパク質の発現量をwestern-blot法を用いて検証した。各細胞株から抽出した10 μ gのタンパク質(細胞抽出液)を12%SDS-アクリルアミドゲル(SDS-PAGE)で分離後、抗Gli1抗体、あるいは、抗B2M抗体(コントロール)を用いて検出した。

図4の抗Gli1抗体を用いたwestern-blot法の結果から、2つの滑膜肉腫細胞株はGli1遺伝子(mRNA)の発現量と同様にGli1タ

ンパク質の発現量が高い細胞株であることが判明した。

2. 滑膜肉腫細胞株での Gli1 遺伝子の機能解析：

Gli1 遺伝子の高発現は腫瘍細胞増殖亢進に関与していることが報告されている⁷。そこで、滑膜肉腫細胞でも Gli1 遺伝子の高発現が、腫瘍細胞増殖に働いているのか検証を行った。まず初めに、siRNA (small interfering RNA) を用いて Gli1 遺伝子の発現量を低下させること (knock down) ができるか調べた (図5)。

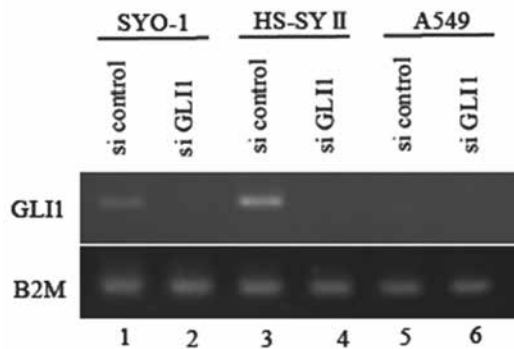


図5. siRNAによるGli1遺伝子の発現量抑制
2種類の滑膜肉腫細胞株 [SYO-1株 (レーン1, 2), HS-SYII株 (レーン3, 4)], および、1種類の肺がん細胞株 [A549株 (レーン4, 5)] のGLI1遺伝子の発現量をRT-PCR法を用いて検証した。なお、コントロールとしてB2M遺伝子を用いた。各細胞に、Gli1特異的なsiRNA (si GLI1), あるいは、全ての遺伝子に影響しないことが示されているコントロールsiRNA (si control) を作用させ、48時間培養した。各細胞から精製した5μgのtotal RNAを用いて一本鎖cDNAを作成し、RT-PCR法を用いて30回増幅させた。反応液の1/50量を1.5%アガロースゲルで分離後、Et-Br染色を行った。

図5から、Gli1特異的なsiRNAは効果的にGli1遺伝子の発現量を抑制できることが判明した。そこで、このsiRNAを用いて、Gli1遺伝子の発現量を低下させた場合に、腫瘍細胞の増殖能に影響を与えるのか調べた。3種類の細胞株 (2種類の滑膜肉腫細胞株SYO-1株, HS-SYII株, および、コントロー

ル細胞株として肺がん細胞株A549株) にGli1特異的なsiRNAを作用させ、1週間培養した。1週間培養後の細胞数を調べ、コントロールsiRNAを作用させた各細胞の細胞数との比較を行った (図6)。

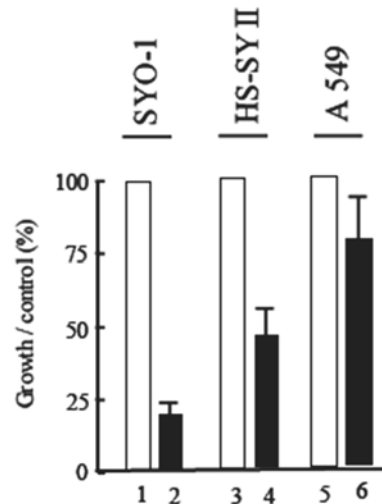


図6. siRNAによるGli1遺伝子の発現量低下による細胞増殖への影響

2種類の滑膜肉腫細胞株 [SYO-1株 (レーン1, 2), HS-SYII株 (レーン3, 4)], および、1種類の肺がん細胞株 [A549株 (レーン4, 5)] の細胞増殖能を示した。3種類の細胞株にGli1特異的なsiRNAを作用させ (レーン2, 4, 6), 1週間培養した。1週間培養後の細胞数を調べ、コントロールsiRNAを作用させた各細胞の細胞数で割ったものを示した [コントロールsiRNAを作用させた各細胞の細胞数を100%と表示した (レーン1, 3, 5)]. エラーバーは3回の実験結果より得られた標準誤差を示す。

図6から、Gli1遺伝子の発現量が低い肺がん細胞株A549株では、Gli1特異的なsiRNAを用いてGli1遺伝子の発現量をさらに抑制しても、細胞増殖能は80%以上を保っていた。一方、Gli1特異的なsiRNAを用いてGli1遺伝子の発現量を抑制した場合、滑膜肉腫細胞株SYO-1株では20%程、HS-SYII株では50%程と、細胞増殖能の低下が著しいことがわかった。この結果から、滑膜肉腫においても、他のがんで報告されているように、Gli1遺伝子の高発現が、腫瘍細胞

増殖能亢進に働いている可能性があることが判明した。

考察

滑膜肉腫細胞において、Smarca1 タンパク質は BAF タンパク質複合体に入ることができずに細胞内で分解されるというモデル (図 1) から、Smarca1 遺伝子の発現低下がみられる腫瘍と同様に、滑膜肉腫細胞株でも Gli1 遺伝子の発現亢進の可能性が予想された。今回、この可能性の検証を行った結果、予想通り、滑膜肉腫でも Gli1 遺伝子の高発現が判明した。さらに、Gli1 タンパク質の発現量も高くなっていることが確認された。

従って、図 1 のモデルに関しては信憑性があるように思われるが、私はこのモデルに関しては疑念を抱いていた。その理由は、BAF タンパク質複合体は細胞内で 1 種類のタンパク質複合体を形成しているのではなく、複数形成されていることが報告されているからである⁵。複数の BAF タンパク質複合体は、それら構成サブユニットが共通なものもあれば、特異的なものも含まれている⁵。私は、SS18 タンパク質が全ての BAF タンパク質複合体に含まれているという解析データ (論文)を見たことがなかったからである。最近、私と同様な疑問を持ったと思われる研究グループが、複数 (3 種類) の BAF タンパク質複合体に SS18 タンパク質が含まれているのか解析を行った研究結果が報告された¹¹。正常細胞では、メジャーな BAF タンパク質複合体は 3 種類 (CBAF, GBAF, および, PBAF) あることが知られている⁵。その論文によれば、SS18 タンパク質は、その中の 2 種類の BAF タンパク質複合体 (CBAF, および, GBAF) の構成サブユニットとして含まれていることが判明した¹¹。また、Smarca1 タンパク質は、その中の 2 種類の BAF タンパク質複合体 (CBAF, および, PBAF) の構成サブユニットとして含まれて

いることが判明した¹¹。この解析から、3 種類の BAF タンパク質複合体の中で、SS18 タンパク質と Smarca1 タンパク質の 2 つが同じ BAF タンパク質複合体に含まれているものは 1 種類 (CBAF) のみであることがわかった¹¹。また、正常細胞における 3 種類の BAF タンパク質複合体 (CBAF, GBAF, および, PBAF) の存在比率は、それぞれ 50%, 20%, 30% となっており¹¹、CBAF タンパク質複合体の影響が強いことが予想される⁵。

さらに、滑膜肉腫において SS18-SSX 融合タンパク質は、CBAF タンパク質複合体の構成サブユニットとして複合体に取り込まれるが、その場合、Smarca1 タンパク質も複合体に入ることができていることがわかった¹¹ (図 1 のモデルとは異なる結果となっている)。しかし、SS18-SSX 融合タンパク質が入った CBAF タンパク質複合体はプロテアソームによるタンパク質分解が起きやすくなり、CBAF タンパク質複合体の総量が減少する (CBAF タンパク質複合体を構成する全てのサブユニットタンパク質の存在量が低下する) ことがわかった¹¹ (図 1 のモデルとは異なる作用機序であるが、Smarca1 タンパク質の存在量が減少する点は同じ結果となっている)。

上記のように、滑膜肉腫における SS18-SSX 融合タンパク質の BAF タンパク質複合体での作用機序は不明な点が多い。しかし、滑膜肉腫細胞において、Smarca1 タンパク質の存在量が減少することが原因で Gli1 遺伝子の発現量が亢進していることは明らかとなった。さらに、siRNA を用いた Gli1 遺伝子の発現量抑制は、滑膜肉腫細胞株の増殖能を抑制する効果があることが判明した。この効果は、シャーレ上、つまり、in vitro 系での腫瘍細胞増殖を抑制したものであり、実際に滑膜肉腫の増殖を抑制することを見出したものではない。従って、滑膜肉腫細胞株をマウスなどに移植し、動物レベルでの抗腫瘍効

果を検証する必要がある。今後、Gli1 遺伝子の発現量を抑制することで、動物レベルでの滑膜肉腫細胞の抗腫瘍効果が確認されれば、Gli1 タンパク質は、滑膜肉腫の標的分子として有望となる可能性が出てくる。

謝辞

滑膜肉腫細胞株、および、肺がん細胞株における Affymetrix 社の DNA チップ型遺伝子発現解析技術を用いた解析は、国立がん研究センター研究所で行われたものである。特に、伊藤研究補助員に感謝する。また、多くの実験に関して、宮本博士に助けて頂き感謝する。

引用文献

- 1) Synovial sarcoma. In: Weiss SW, Goldblum JR, eds. *Soft Tissue Tumors*. 5th ed. St Louis: Mosby: 1161-1182, 2008.
- 2) Sandberg AA, Bridge JA: Updates on the cytogenetics and molecular genetics of bone and soft tissue tumors. *Synovial sarcoma*. *Cancer Genet Cytogenet*(133): 1-23, 2002.
- 3) Crew, AJ, Clark J, et al: Fusion of SYT to two genes, SSX1 and SSX2, encoding proteins with homology to the Kuppel-associated box in human synovial sarcoma. *EMBO J*(14): 2333-2340, 1995.
- 4) Lim FL, Soulez M, et al: A KRAB-related domain and a novel transcription repression domain in protein encoded by SSX genes that are disrupted in human sarcomas. *Oncogene*(17): 2013-2018, 1998.
- 5) Hargreaves DC, Crabtree GR.: ATP-dependent chromatin remodeling genetics, genomics and mechanisms. *Cell Res*(21): 396-420, 2011.
- 6) Kadoch C, Crabtree GR.: Reversible disruption of mSWI/SNF (BAF) complexes by the SS18-SSX oncogenic fusion in synovial sarcoma. *Cell*(153):71-85, 2013.
- 7) Kohashi K, Oda Y. Oncogenic roles of SMARCB1/INI1 and its deficient tumors. *Cancer Sci*(108): 547-552. 2017.
- 8) Paces-Fessy M, Boucher D, et al: The negative regulator of Gli, suppressor of fused (Sufu), interacts with SAP18, Galectin3 and other nuclear proteins. *Biochem J*(378): 353-62, 2004.
- 9) Ishida M, Tanaka S, et al: Transcriptional coactivator activity of SYT is negatively regulated by BRM and Brg1. *Genes Cells*(9): 419-428, 2004.
- 10) Ishida M, Miyamoto M, et al: The SYT-SSX Fusion Protein Down-Regulates the Cell Proliferation Regulator COM1 in t(x;18) Synovial Sarcoma. *Mol Cell Biol*(27): 1348-1355, 2007.
- 11) Jinxiu L, Timonthy S. et al: A Role for SMARCB1 in Synovial Sarcomagenesis Reveals That SS18-SSX Induces Canonical BAF Destruction. *Cancer Discovery*(11): 2621-2637, 2021.