

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390428

研究課題名 (和文)

小胞輸送分子 Hrs 欠損マウスを用いた、ユビキチンを癌治療標的とする基礎的研究

研究課題名 (英文)

A fundamental research for developing ubiquitin-targeted cancer therapies utilizing vesicular transport related molecules Hrs knocked-out mice.

研究代表者

八重樫 伸生 (YAEGASHI NOBUO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00241597

研究成果の概要 (和文)：

小胞輸送関連遺伝子 Hrs 欠損により c-Myc 発現が減弱するが、種々のがんにおいて c-Myc の過剰発現と患者予後との相関が報告されている。我々は大規模 siRNA スクリーニングにて c-Myc をバイオマーカーとする新規治療標的を同定した。創薬可能分子を標的とする 3500 遺伝子ライブラリーを使用し Casein Kinase 1 epsilon を新規治療標的分子として同定、特異的阻害剤 IC261 がマウスモデルで卵巣癌治療効果を持つ事を示した。

研究成果の概要 (英文)：

Defect of vesicle transport related molecule Hrs diminishes the expression of c-Myc. There are some reports concerning the relationship between c-Myc overexpression and poor prognosis of cancer patients. We attempted to identify new therapeutic target utilizing c-Myc overexpression as a biomarker. We used a siRNA library consists of 3500 druggable genome for a screening, and selected Casein Kinase 1 epsilon as a new target. We also showed IC261, a specific inhibitor of Casein Kinase 1 epsilon has therapeutic effects in mouse ovarian cancer model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2009 年度	4,200,000	1,260,000	5,460,000
2010 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
年度			
年度			
総計	14,900,000	4,470,000	19,370,000

研究分野：婦人科腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：Hrs、癌、マウス、ユビキチン、ライソソーム

1. 研究開始当初の背景

我々は以前に小胞輸送関連遺伝子 Hrs の遺伝子欠損により、E-cadherin のユビキチン化後のライソゾームでの分解が遷延化する事

を明らかにした。さらに Hrs 欠損細胞では E-cadherin の蓄積により b-catenin の核内移行が阻害され、c-Myc および cyclinD の発現が減弱することを明らかにした。小胞輸送関

連分子の異常と発がんの関係は今まで詳しく調べられていない。また c-Myc は癌遺伝子として種々のがんで過剰発現が報告されている。特に婦人科癌では非常に高頻度に c-Myc の過剰発現が見られ、予後不良との関連を示す報告も多い。

2. 研究の目的

本研究においては当初 Hrs と c-Myc の関連を、マウス発がんモデルを用いて解析する事を目的にした。その後大規模 siRNA スクリーニング法を用いて、Myc 過剰発現をバイオマーカーとする新規治療標的の探索を目的とした。

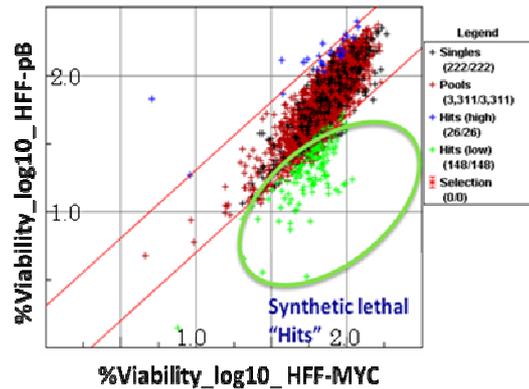
3. 研究の方法

ヒト新生児包皮より樹立した繊維芽細胞を用い、c-Myc 強制発現細胞(HFFc-Myc)およびコントロール細胞(HFFpBABE)を樹立した。創薬可能分子(リン酸化酵素、ユビキチンリガーゼ、DNA 修復酵素)を標的とする 3500 遺伝子からなる siRNA ライブラリーを使用し、HFF に siRNA を導入、4 日後に細胞生存率を測定した。HFFc-Myc 細胞を選択的に増殖阻害する遺伝子群を選択し、複数 siRNA での確認実験、遺伝子ネットワーク解析での c-Myc との関連性、および入手可能な低分子阻害剤の有無より候補遺伝子を選び出した。また特異的阻害剤を用いて細胞増殖阻害効果、およびマウスがんモデルを用いて治療効果の有無を調べた。

4. 研究成果

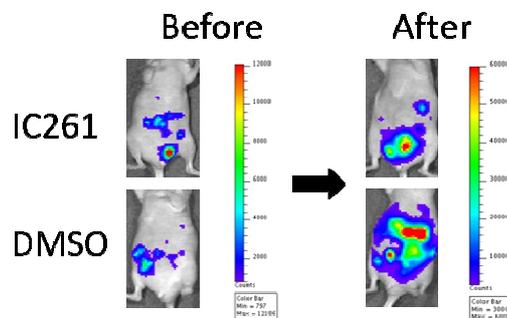
siRNA スクリーニングにて、c-Myc 過剰発現細胞に選択的毒性を示す遺伝子群を選択した (図 1 緑色領域)。

(図 1)



これらの 148 遺伝子より検証実験を通じて Casein Kinase 1 epsilon(CK1e)を新規治療標的分子として同定した。

shRNA による遺伝子阻害実験および特異的阻害剤 IC261 を用いて、CK1e 欠損が正常細胞にはほとんど毒性がなく、c-Myc 強発現細胞にのみ強い増殖阻害効果を示す事を in vitro および in vivo マウスモデルで確認した。その機構としては、過剰 c-Myc による G2/M 期での強制的遺伝子合成を通じた分裂期細胞死を想定している。さらに我々が開発した卵巣がん腹膜播種モデルではルシフェラーゼ定常発現卵巣がん細胞株の xenograft 実験で IC261 投与が有意差を持って生存期間を延長したので、IC261 が新規治療薬剤と有用であると考えている (図 2)。



(図 2)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ①Tsuiji K, Takeda T, Li B, Wakabayashi A, Kondo A, Kimura T, Yaegashi N. Inhibitory effect of curcumin on uterine leiomyoma cell proliferation. 査読有. *Gynecol Endocrinol*. 2011 (accepted)
- ②Tsuda H, Ito K, Yaegashi N, Hirasawa A, Sudo T, Kita T, Terai Y, Kigawa J, Sugiyama T, Aoki D. Relationship between ABCF2 expression and response to chemotherapy or prognosis in clear cell adenocarcinoma of the ovary. 査読有. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20(5):794-797.
- ③Yue X, Akahira J, Utsunomiya H, Miki Y, Takahashi N, Niikura H, Ito K, Sasano H, Okamura K, Yaegashi N. Steroid and Xenobiotic Receptor (SXR) as a possible prognostic marker in epithelial ovarian cancer. 査読有. *Pathol Int*. 2010; 60(5):400-406.
- ④Nishimura S, Tsuda H, Ito K, Takano M, Terai Y, Jobo T, Kigawa J, Sugiyama T, Yaegashi N, Aoki D. Differential Expression of Hypoxia-Inducible Protein 2 Among Different Histological Types of Epithelial Ovarian Cancer and in Clear Cell. 査読有. *Int J Gynecol Cancer*. 2010;20:220-226
- ⑤Takano M, Sugiyama T, Yaegashi N, Suzuki M, Tsuda H, Sagae S, Udagawa Y, Kuzuya K, Kigawa J, Takeuchi S, Tsuda H, Moriya T, Kikuchi Y. The impact of complete surgical staging upon survival in early-stage ovarian clear cell carcinoma: a multi-institutional retrospective study. 査読有. *International Journal of Gynecologic Cancer*. 2009; 19:1353-1357
- ⑥Toyoshima M, Tanaka Y, Matumoto M, Yamazaki M, Nagase S, Sugamura K, Yaegashi N. Generation of a syngeneic mouse model to study the intraperitoneal metastasis of ovarian cancer with in vivo luciferase imaging. 査読有. *Luminescence*. 2009; 24:324-331
- ⑦Fujimoto T, Nanjyo H, Fukuda J, Nakamura A, Mizunuma H, Yaegashi N, Sugiyama T, Kurachi H, Sato A, Tanaka T. Endometrioid uterine cancer: histopathological risk factors of local and distant recurrence. 査読有. *Gynecol Oncol*. 2009; 112:342-347
- ⑧Tamai K, Toyoshima M, Tanaka N, Yamamoto N, Owada Y, Kiyonari H, Murata K, Ueno Y, Ono M, Shimosegawa T, Yaegashi N, Watanabe M, Sugamura K. Loss of hrs in the central nervous system causes accumulation of ubiquitinated proteins and neurodegeneration. 査読有. *Am J Pathol*. 2008; 173: 1806-1817
- ⑨Matsumoto M, Yamaguchi Y, Seino Y, Hatakeyama A, Takei H, Niikura H, Ito K, Suzuki T, Sasano H, Yaegashi N, Hayashi S. Estrogen signaling ability in human endometrial cancer through the cancer-stromal interaction. 査読有. *Endocr Relat Cancer*. 2008; 15(2): 451-463

⑩Tanabe K, Matsumoto M, Ikematsu S, Nagase S, Hatakeyama A, Takano T, Niikura H, Ito K, Kadomatsu K, Hayashi S, Yaegashi N. Midkine and its clinical significance in endometrial carcinoma. 査読有. Cancer Sci. 2008; 99(6): 1125-1130

[学会発表] (計1件)

①豊島 将文、Identification of Targeted Therapies for MYC-amplified Ovarian Cancers by Functional Genomics、第69回日本癌学会 臓器別シンポジウム(招待講演)、2010年9月23日、大阪

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八重樫 伸生 (YAEGASHI NOBUO)
東北大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号: 00241597

(2) 研究分担者

豊島 将文 (TOYOSHIMA MASAFUMI)
東北大学・大学院医学系研究科・非常勤講師
研究者番号: 70451581

菅村 和夫 (SUGAMURA KAZUO)
宮城県立がんセンター (研究所)・免疫学部・総長
研究者番号: 20117360