

令和 6 年 6 月 1 0 日現在

機関番号：24601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16483

研究課題名（和文）ユビキチン修飾系を標的とした新規消化器癌治療法の開発

研究課題名（英文）Development of Novel Gastrointestinal Cancer Therapy by Targeting Ubiquitin Proteasome Systems

研究代表者

國重 智裕（Kunishige, Tomohiro）

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：70745801

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：新規抗癌剤の開発等により癌治療は飛躍的な進歩を遂げており多くの癌腫において治療成績は向上している。しかし、進行・再発消化器癌は、今なお治療抵抗性で予後不良である。本研究では E3 ユビキチンリガーゼの一つである UBR5 に着目し新規治療薬としての可能性について検証を行った。結果、未治療の胃癌検体を用いて UBR5 の発現レベルをリアルタイム PCR、免疫組織染色を用いて検証を行った。しかし、条件変更を行い複数回の検証を行ったが病変部と非病変部での発現レベルに相違はなく、また全体としても低発現であった。以上より他癌とは異なり胃癌においては UBR5 の発現が低いことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでに UBR5 が乳癌や膀胱癌などの悪性腫瘍で過剰発現していることが報告され、卵巣癌においては過剰発現が予後不良因子であり薬剤抵抗性と関連していることが示され、乳癌・膀胱癌においては腫瘍細胞増殖と転移に関連していることが明らかとなっている。しかし、今回の未治療胃癌切除検体における検証では、UBR5 はリアルタイム PCR、免疫組織染色を行っても病変部での発現は強く認めなかった。よって、胃癌においては治療標的としての意義は低いことが明らかになった。

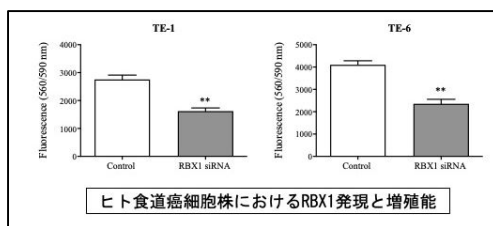
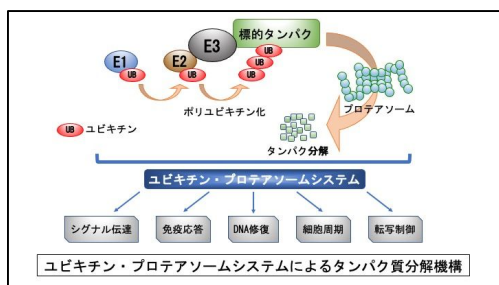
研究成果の概要（英文）：Cancer treatment has advanced significantly with the development of new anticancer drugs, leading to improved outcomes for many cancer types. However, treatment-resistant advanced or recurrent gastrointestinal cancers still have a poor prognosis. This study examined the potential of UBR5, an E3 ubiquitin ligase, as a novel therapeutic agent. We assessed the expression level of UBR5 using real-time PCR and immunohistochemistry in untreated gastric cancer specimens. Despite multiple validations under different conditions, we found no difference in expression levels between lesional and non-lesional areas, and the overall expression level was low. These results suggest that UBR5 expression is low in gastric cancer, unlike in other cancers.

研究分野：上部消化管癌

キーワード：ユビキチンプロテアソームシステム

## 1. 研究開始当初の背景

早期診断や手術技術の向上，新規抗癌剤や分子標的薬，免疫チェックポイント阻害薬の開発等により癌治療は飛躍的な進歩をとげ，多くの癌腫において治療成績は向上している。しかしながら，進行・再発消化器癌は，今なお治療抵抗性で予後不良である。その治療成績を飛躍的に向上させるためには，癌進展機序のさらなる解明が不可欠である。近年，腫瘍進展におけるユビキチン・プロテアソームシステムの重要性が世界的に論文報告されている。



これまでにはわれわれはヒト胃癌・食道癌組織で数種の E3 ユビキチンリガーゼや，E3 ユビキチンリガーゼの構成因子 (RBX1, TRIM32) が過剰発現しており，その発現レベルが術後生存期間と有意な関連を示すなどの臨床的意義を有すること，in vitro 実験で癌細胞の増殖能と関連することを報告してきた。近年，巨大な E3 ユビキチンリガーゼである UBR5 が乳癌や膀胱癌などの悪性腫瘍で過剰発現していることが報告され，卵巣癌においては UBR5 の過剰発現が予後不良因子であり薬剤抵抗性と関連していることが示されている。さらに，乳癌・膀胱癌においては腫瘍細胞の増殖と転移に関連していることが明らかとなっている。しかしながら，消化器癌において

UBR5 との関係については報告はない。

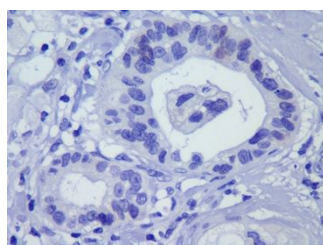
## 2. 研究の目的

胃癌や食道癌などの消化器癌を対象として，癌の進展における E3 ユビキチンリガーゼの一つである UBR5 の役割を解明することである。これまでに，ユビキチン・プロテアソームシステム異常に着目し，消化器癌細胞における E3 ユビキチンリガーゼの過剰発現が臨床的意義を有することを明らかにしてきた。本研究では，独自に蓄積してきた一連の研究成果と最新の癌研究報告に基づき，UBR5 の消化器癌に対する治療標的としての意義を検証する。我々の先行研究および他の基礎研究により，ユビキチン・プロテアソームシステム異常は転移・治療抵抗性に関連する可能性が示唆される。これらのことから，「ユビキチン・プロテアソームシステム異常は癌進展機序の根幹をなしている」可能性があると考えられる。よって，UBR5 を治療標的とすることにより，直接的な抗腫瘍効果のみならず，転移抑制効果や抗癌剤等の感受性改善効果についても期待される。本研究の成果はユビキチン・プロテアソームシステムの癌進展における意義がさらに明らかになることに加え，従来の抗癌剤が標的としている機序とは異なる観点から，難治性消化器癌に対する新規治療標的となる可能性について検証することを目的とする。

## 3. 研究の方法

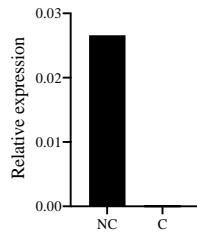
消化器癌を対象として，臨床検体を用いた UBR5 発現レベルと臨床データや予後との関係性の検証・RNA 干渉法による種々の in vitro 実験，in vivo 実験を行う。2004 年から 2008 年に根治的切除を受けた術前未治療胃癌 100 例の切除標本を抗 UBR5 特異抗体で免疫染色を行い，さらに real-timePCR にて UBR5 mRNA の発現を検証する。病変部において高発現が認められた場合，臨床病理学的因子・予後との関連を検証し，引き続き in vitro 実験を行う。in vitro 実験系ではヒト胃癌細胞株などを用いて UBR5 の発現を siRNA を用いてノックダウンし抗腫瘍効果の確認と機序の解明を行う。さらに，現在臨床にて用いられている化学療法剤または放射線療法と siRNA を併用し UBR5 ノックダウン併用治療細胞株における腫瘍増殖抑制効果の比較検討を行う。

## 4. 研究成果



未治療の胃癌検体を用いて UBR5 の発現レベルをリアルタイム PCR，免疫組織染色を用いて検証を行った。

しかし，条件変更を行い複数回の検証を行ったが病変部と非病変部での染色形式には差はそれほどなく，高発現を認める検体を認めなかった。さらに染色枚数を増やし，染色条件を変更し検証を行ったが，免疫染色では有意な差を認めなかった。



さらに，リアルタイム PCR にて UBR5 mRNA の発現の検証も行ったが，病変部と非病変部での mRNA の発現レベルに相違はなく，また全体としても低発現であった．

以上より他癌とは異なり胃癌においては UBR5 の発現が低いことがわかった．

これまでに UBR5 が乳癌や膀胱癌などの悪性腫瘍で過剰発現していることが報告され、卵巣癌においては過剰発現が予後不良因子であり薬剤抵抗性と関連していることが示され、乳癌・膀胱癌においては腫瘍細胞増殖と転移に関連していることが明らかとなっていたが、今回の未治療胃癌切除検体における検証では、UBR5 は病変部での発現は強く認めず、in vitro や in vivo での検証に発展させることが困難であった．

よって、胃癌においては UBR5 は治療標的としての意義は低いことが明らかになった．

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6 . 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------