

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：34401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2015

課題番号：24791677

研究課題名(和文) 低分子ユビキチン様修飾因子の翻訳後修飾による進行性前立腺癌の治療

研究課題名(英文) Therapy for advanced prostate cancer using small ubiquitin-like modifier

研究代表者

稲元 輝生 (Teruo, Inamoto)

大阪医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20330087

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌の成長に深く関与するTGF- β 関連分子や癌抑制遺伝子であるp53、p21、p27kip1などの細胞周期関連蛋白、癌遺伝子などがユビキチン化によって発現制御されることが知られており、p27kip1を含めたcell cycle regulatorの発現も調整することで癌細胞の発育を制御しうる。同じくユビキチン・プロテアソームシステムのターゲットであるSmad7の発現は腫瘍の悪性度で癌細胞成長性にも抑制性にも働く。SUMOはユビキチンと似た酵素反応経路を利用してタンパク質に結合するがユビキチンがタンパク質分解のタグとなるのに対して、SUMOにはタンパク質分解のタグ機能はないという特徴を有する。

研究成果の概要(英文)：Among all functional proteins which relate cancer biology has been found. Although, protein itself has limited role in living cells, and post-translational modification means lot in protein function. Authors and others found that protein molecule does work in combination with other molecules. Ubiquitin and SUMO, polypeptides, are emerging in cancer biology, DNA repair, translation, signal transduction, through its protein modification. TGF- β signaling pathway molecules, which has a decent role in prostate cancer survival, and oncogenes like p53, cell cycle regulators like p21, p27kip1 are all ubiquitinated, thereafter gain/loss function occurs. Expression of smad7, which is a target of ubiquitin-proteasome system differs depending on the malignancy. SUMO utilizes the similar pathway to ubiquitin.

研究分野：泌尿器科全般

キーワード：腫瘍学 泌尿器腫瘍 ストレス

1. 研究開始当初の背景

研究開始当時には去勢抵抗性前立腺癌に対する新規の分子標的薬が数多く臨床治験を経て、癌特異生存さえ延長する効果を有することが明らかになった。癌の増殖、ARの変異、発育環境、浸潤などの進行性前立腺癌の進展の機序が解明され、これらの過程に関わる特異的なタンパク分子が数多く同定された。しかし、遺伝子配列に基づき合成された分子が直接機能を発揮することは少なく、その多くは種々の翻訳後修飾を受けることでその分子の機能に多様性が生まれる。実際、申請者らや他者の研究結果からも分子は単一で機能することは少なく、実際は癌細胞内でダイナミックに発現調節や機能修飾をなされることが明らかとなった。近年、ユビキチンや SUMO のようなポリペプチドによるタンパク質への修飾が、タンパク質分解、DNA 修復、翻訳調節、シグナル伝達などさまざまな生命現象に関わることが明らかになっている。前立腺癌の成長に深く関与する TGF 関連分子や癌抑制遺伝子である p53、p21、p27kip1 などの細胞周期関連蛋白、癌遺伝子などがユビキチン化によって発現制御されることが知られており、p27kip1 を含めた cell cycle regulator の発現も調整することで癌細胞の発育を制御しうることはすでに報告したとおりである。同じくユビキチン・プロテアソームシステムのターゲットである Smad7 の発現度は腫瘍の悪性度に従って癌細胞成長性にも抑制性にも働くことを申請者らは報告し、前回の申請では申請者らはタンパクの分解システムと進行性腎癌の治療を関連づけた。SUMO はユビキチンと似た酵素反応経路を利用してタンパク質に結合するがユビキチンがタンパク質分解のタグとなるのに対して、SUMO にはタンパク質分解のタグ機能はないという特徴を有する。SUMO は翻訳後修飾によってさまざまな細胞内蛋白を可逆的に修飾しその蛋白自体の

機能を調節し細胞内での局在や発現量の調整まで担っている。そして SUMO 化・非 SUMO 化のバランス調節には SUMO プロテアーゼ (SENP) が SUMO 化された蛋白から修飾を外すことで重要な役目を果たしている。興味深い点としてさまざまな癌の組織中で SENP の発現が変化することが挙げられる。前立腺癌と SENP の関わりは深く、SENP1 は正常の前立腺上皮を異形成のある状態に変異させ、前立腺細胞において AR や c-Jun、CyclinD1 等の癌原に繋がる細胞内シグナルを修飾することが示唆されている。前立腺癌と同じくホルモン依存性を有する乳癌においても SENP ファミリーの発現が確認されており、前立腺癌の組織病理標本の検索で SENP1 のみならず SUMO2/3 のプロテアーゼである SENP3 の mRNA レベルでの発現上昇も確認されている。さらには SENP3 の発現誘導によって血管新生のシグナルを誘導することも知られ p300 の脱 SUMO 化を介して hypoxia-inducible factor 1 (HIF1) の転写を促進するとされる。これら全ての知見によって SENP の細胞内でのバランス制御は SUMO の恒常性維持に繋がり癌の発生と進展を制御できることが可能になると考えられる。

2. 研究の目的

転移性の前立腺癌去勢抵抗性前立腺癌は、ホルモン療法が治療の中心となるが5年以内に去勢抵抗性となり、薬剤耐性となることが社会的問題となっている。いったん去勢抵抗性となれば原発癌と腫瘍の性質が完全に異なることが知られていて、これに対する新規薬剤が治療の適応となっている。この研究で性質が異なってしまう去勢抵抗性癌の挙動を調べることが目的である。進行前立腺癌に対する現在の標準治療であるアンドロゲン除去療法 (ADT) を実施すると、ADT による治療奏効が数年間は持続するもののやがては、テストステロン値が去勢レベルであるに

も関わらず、ADT 単独では腫瘍の悪性化をコントロールできない段階、すなわち去勢抵抗性前立腺癌 (castration-resistant prostate cancer; CRPC) に進行する。CRPC は去勢後もアンドロゲン産生・代謝経路“ androgen axis ”に依存しつづけ、治療に抵抗性であり、化学療法で生存期間を改善することは困難である。従って、この CRPC に至るメカニズムの解明と治療成績の改善は喫緊の課題である。申請者らは翻訳後修飾タンパク質である低分子ユビキチン様修飾因子 = Small Ubiquitin-related Modifier (SUMO) が Androgen receptor (AR) 活性化のみならず “ androgen axis ” に重要な働きを担うことに着目し、SUMO システムを制御することにより前立腺癌の発育をコントロールし、さらに CRPC の治療応用に繋げることを目標とする。

3. 研究の方法

細胞培養と動物実験を通して、去勢抵抗性癌とホルモン感受性の前立腺癌の性質を調べる。一般に有害物質の攻撃を受けた遺伝子は突然変異を起こし発癌に寄与することが知られており、遺伝子が正常の場合でも染色体が不安定となった場合、細胞の癌化の素地が出来上がると信じられている。翻訳後修飾タンパク質 SUMO は、核内構造体タンパク質、クロマチンタンパク質、シグナル伝達因子等を修飾し、多くの生命活動の制御に役割を果たす。SUMO の翻訳後修飾機構が、細胞の環境応答や核機能に役割を担うことで染色体の不安定化を SUMO が防ぎ、癌化を抑制する可能性さえある。また癌化後も数多くの癌で SUMO の恒常性維持が失われていることは重要な点である。SUMO 化の過程には E2 結合タンパク質と E3 リガーゼの協調的な作用を必要とする。SUMO E2 リガーゼである Ubc9 はいくつかの癌での発現が明らかとなっており、初期の研究でも Ubc9 を癌治療の

ターゲットにする試みがなされている。SUMO 化の E2 リガーゼを発現調節することは細胞内の全てのターゲットを SUMO 化することに他ならず、単純に Ubc9 を発現調節するだけでは癌治療に直結する成果には繋がない。ところが SUMO 化を特定の癌化シグナル分子に限定して行うことが可能であれば癌化の制御と癌治療が可能となることは間違いない。この点で脱 SUMO 化のプロテアーゼは有望な癌治療のターゲットといえる。その理由は 3 つのポイントに集約される。すなわち SENP は 6 つあり脱 SUMO 化物質への結合親和性が異なる、異なった SUMO のアイソフォームが 3 つありペプチダーゼ活性が異なる、いくつかの癌での発現状況が違うといった点でそれぞれ特異性を有するからである。例えば SENP1 と SENP3 の選択的阻害が可能であれば前立腺癌における偏った SUMO 系を均衡を保った状態に戻すことが可能であるはずである。事実、前立腺癌の組織内の SENP3 発現レベル上昇は血管新生の亢進と癌の悪性度に正に相関する知見が示され、前立腺組織での SENP1 の発現は癌化自体と関連するとする研究もなされている。したがって、CRPC における SUMO 化の解明は発癌のメカニズムの解明の一助になり、さらに CRPC の治療応用にも繋がる可能性が高い。

4. 研究成果

SUMO 化・脱 SUMO 化が前立腺癌、特に CRPC の “ androgen axis ” を修飾することが強く推定されるものの、前立腺癌自体の増殖を SUMO 化で制御できるか否かは全く明らかにはされていなかったといっても過言ではない。CRPC の細胞において SUMO1、SUMO2 の抑制と SENP1、SEN2、SEN3 の活性化を通して CRPC が Ubc9、PIAS、Mdm2 などの SUMO シグナルを修飾する分子を利用することを明らかにしたうえで、SUMO1、SUMO2 を過発現させることで

CRPCの発育を抑制させ、さらには抗癌剤の感受性を制御できることを調べた。

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4件)

1. Takahara K, Inamoto T, Minami K, Yoshikawa Y, Takai T, Ibuki N, Hirano H, Nomi H, Kawabata S, Kiyama S, Miyatake S, Kuroiwa T, Suzuki M, Kirihata M, Azuma H. The Anti-Proliferative Effect of Boron Neutron Capture Therapy in a Prostate Cancer Xenograft Model.(査読有) PLoS One. 2015 Sep 1;10(9):e0136981. doi:10.1371/journal.pone.0136981. eCollection 2015.

2. Inamoto T, Azuma H, Hinotsu S, Tsukamoto T, Oya M, Ogawa O, Kitamura T, Kazuhiro S, Naito S, Namiki M, Nishimura K, Hirao Y, Usami M, Murai M, Akaza H; Japan Study Group of Prostate Cancer (J-CaP). Age at diagnosis on prostate cancer survival undergoing androgen deprivation therapy as primary treatment in daily practice: results from Japanese observational cohort.(査読有) J Cancer Res Clin Oncol. 2014. Jul;140(7):1197-204. doi: 10.1007/s00432-014-1638-y. Epub 2014 Mar 28.

3. Takahara K, Ii M, Inamoto T, Komura K, Ibuki N, Minami K, Uehara H, Hirano H, Nomi H, Kiyama S, Asahi M, Azuma H. Adipose-derived stromal cells inhibit prostate cancer cell proliferation inducing apoptosis.(査読有) Biochem Biophys Res Commun. 2014 Apr 18;446(4):1102-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2014.03.080.

4. Komura K, Inamoto T, Takai T, Uchimoto T, Saito K, Tanda N, Kono J, Minami K, Uehara H, Fujisue Y, Takahara K, Hirano H, Nomi H, Watsuji T, Kiyama S, Azuma H. Single session of high-intensity focused ultrasound for localized prostate cancer: treatment outcomes and potential effect as a primary therapy.(査読有) World J Urol. 2014 Oct;32(5):1339-45. doi: 10.1007/s00345-013-1215-z.

[学会発表](計3件)

1. Teruo Inamoto 「The systemic inflammation-based Glasgow Prognostic Score as a powerful prognostic factor in patients with upper tract urothelial carcinoma」 AUA Annual Meeting 2015. 2015.05.17. New Orleans USA

2. 稲元 輝生, 高原 健, 南 幸一郎, 内本 泰三, 高井 朋聡, 齋藤 賢吉, 反田 直希, 能見 勇人, 木山 賢, 東 治人. 「限局性前立腺癌に対する2つの異なる低侵襲治療モダリティにおける術前アンドロゲン除去療法の意義」第79回日本泌尿器科学会東部総会 2014.10.13 パシフィコ横浜(横浜)

3. 稲元 輝生, 高井 朋聡, 高原 健, 伊夫 貴直, 平野 一, 内本 泰三, 齋藤 賢吉, 反田 直希, 南 幸一郎, 能見 勇人, 木山 賢, 東 治人. 「小骨盤腔に対する前立腺の大きさとLRP成績」第64回日本泌尿器科学会中部総会 2014.10.18 アクティシティ浜松(静岡)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

稲元 輝生 (Inamoto Teruo)

大阪医科大学・医学部・診療准教授

研究者番号: 20330087

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

()

研究者番号: