

2015年度リレーフォーライフ・ジャパン「プロジェクト未来」  
「UCHL1-HIF-1 依存的ながんの遠隔転移を抑制する治療法の開発」に係る研究報告書

2016年12月9日

京都大学 放射線生物研究センター  
ゲノム動態研究部門 がん細胞生物学  
教授 原田 浩

## 1. はじめに

本研究プロジェクトを提案するまでの研究で私は、がんの悪性化に関わる HIF-1 という蛋白質を活性化する新規遺伝子 UCHL1 を独自に見出していた。本プロジェクトで私は「①UCHL1 が HIF-1 を活性化し、がんの転移を導くメカニズムを解明すること」、および「②UCHL1-HIF-1 経路の活性を阻害する薬剤を探索すること」を目指して、研究に着手した。

## 2. UCHL1-HIF-1 経路を治療標的とする非臨床 POC の取得

UCHL1 が HIF-1 を活性化する作用機序と、UCHL1-HIF-1 経路を治療標的として活用する意義を検証すべく、以下の研究を行った。まず免疫沈降実験によって、UCHL1 が HIF-1 $\alpha$  タンパク質と直接的に結合し、HIF-1 $\alpha$  タンパク質の脱ユビキチン化を促進することが明らかになった。さらに、ヒト子宮頸がん由来細胞株やヒト乳がん由来細胞株を用いた細胞生物学的解析を通じ、UCHL1 の脱ユビキチン化活性によって HIF-1 $\alpha$  タンパク質を安定化し、その結果として HIF-1 活性が亢進することを確認した。

次に、UCHL1 による HIF-1 の活性化が持つ病態生理学的な意味を明らかにするために以下の研究を実施した。まず、UCHL1-HIF-1 経路の活性化によって MMP2 や MMP9 をはじめとする転移関連遺伝子の発現が誘導されることを定量的 RT-PCR で見出した。次に UCHL1-HIF-1 経路の活性化が実際にがんの遠隔転移を亢進するか否かを検証する目的で、マウス肺転移モデルによるインビボ実験を実施した。その結果、UCHL1 を過剰発現したがん細胞をマウス尾静脈から移植した場合に、肺に形成される転移コロニー数が有意に増加することを確認した (Figure 1)。また、UCHL1 による転移の亢進が、HIF-1 $\alpha$  遺伝子のノックダウンや HIF-1 阻害剤で著明に抑制されることが明らかになり、確かに UCHL1 が HIF-1 依存的ながんの遠隔転移を亢進することが示された (Figure 2)。

Figure 1

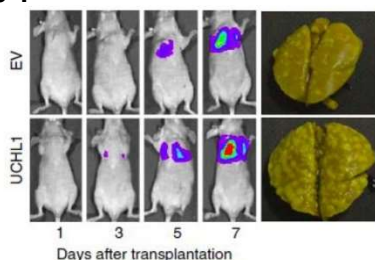
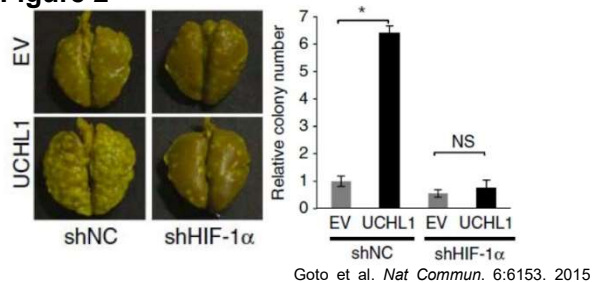


Figure 2



さらに、UCHL1 遺伝子のノックダウンや UCHL1 阻害剤を用いて UCHL1-HIF-1 経路を阻害した場合に、がんの転移形成能が有意に抑制されることを確認し、UCHL1 を治療標的とする意義を確認した。

最後に、UCHL1-HIF-1 経路ががん患者の生命予後に影響するか否かを検証する目的で、京大病院で保管しているヒト乳がんおよびヒト肺がんの検体を対象にした研究を実施した。抗 UCHL1 抗体と抗 HIF-1 $\alpha$  抗体による免疫組織化学染色の結果、腫瘍内の UCHL1 発現量が HIF-1 $\alpha$  発現量と相関し、UCHL1 の腫瘍内発現量の高い患者群は術後生存期間が有意に短いことが明らかになった。以上の結果は、UCHL1 が HIF-1 $\alpha$  の脱ユビキチン化を介して HIF-1 を活性化し、がんの遠隔転移を亢進させる機能を持つこと、故に、がんの遠隔転移を抑制する為の新たな標的、および予後予測マーカーとして UCHL1 を活用し得ることが明らかになった。

### 3. UCHL1-HIF-1 経路に対する阻害剤スクリーニング系の確立と検証

これまでの研究で我々は、HIF-1 活性依存的に 1 万倍以上のルシフェラーゼ発現を誘導する人工レポーター遺伝子 (*5HREp-luc*) を構築することに成功している。また本研究を通じ、UCHL1 の過剰発現によって *5HRE-luc* レポーター遺伝子から生じる発光量が増加することを確認している。これらの知見を基盤に我々は、UCHL1 の活性を阻害する低分子化合物のスクリーニング系の確立に着手した。2017 年度以降に、低分子化合物のスクリーニングと、得られたヒット化合物の薬効薬理試験を実施する。

### 4. 研究成果

Goto Y, Zeng L, Yeom CJ, Zhu Y, Morinibu A, Shinomiya K, Kobayashi M, Hirota K, Itasaka S, Yoshimura M, Tanimoto K, Torii M, Sowa T, Menju T, Sonobe M, Kakeya H, Toi M, Date H, Hammond EM, Hiraoka M, **\*Harada H**. UCHL1 provides diagnostic and antimetastatic strategies due to its deubiquitinating effect on HIF-1 $\alpha$ . *Nature Communications*. 6: 6153.2015.

Zeng L, Morinibu A, Kobayashi M, Zhu Y, Wang X, Goto Y, Yeom CJ, Zhao T, Hirota K, Shinomiya K, Itasaka S, Yoshimura M, Guo G, Hammond EM, Hiraoka M, **\*Harada H**. Aberrant IDH3 $\alpha$  expression promotes malignant tumor growth by inducing HIF-1-mediated metabolic reprogramming and angiogenesis. *Oncogene*. 34:4758-4766. 2015.

Inoue M, Yoshimura M, Kobayashi M, Morinibu A, Itasaka S, Hiraoka M, **\*Harada H**. PLK1 blockade enhances therapeutic effects of radiation by inducing cell cycle arrest at the mitotic phase. *Scientific Reports*. 5:15666. 2015.

**\*Harada H**. Hypoxia-inducible factor 1-mediated characteristic features of cancer cells for tumor radiareistance. *J Radiat Res*. 57:99-105. 2016.

Yeom CJ, Zeng L, Goto Y, Morinibu A, Zhu Y, Shinomiya K, Kobayashi M, Itasaka S, Yoshimura M, HurCG, Kakeya H, Hammond EM, Hiraoka M, **\*Harada H**. LY6E: a conductor of malignant tumor growth through modulation of the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 axis. *Oncotarget*. 11670. 2016.