

# がんの遠隔転移発生率を予測する 新規バイオマーカー UCHL1-HIF-1に関する研究

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

(共同研究者)

京都大学 医学部附属病院 助教 吉村 通央  
京都大学 放射線生物研究センター 特定研究員 小林 稔

## はじめに

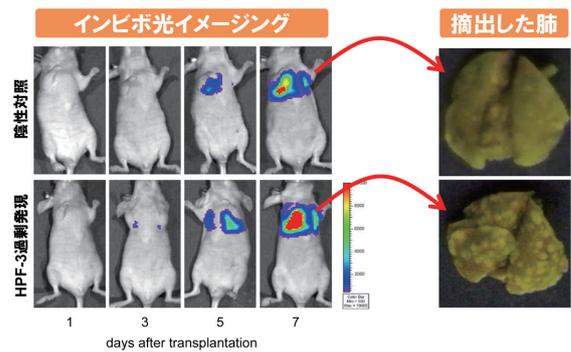
厚生労働省が公表した資料によると、日本人男性の約2人に1人、女性の約3人に1人が一生のうちに“がん”と診断され、肝臓がん、膵臓がん、肺がん患者の5年生存率は僅か20%にも満たないことが報告されている。がん治療の成績不良は、腫瘍内のユニークな微小環境下で、一部のがん細胞が抗がん剤や放射線治療への抵抗性を獲得するためであると考えられており、低酸素誘導性転写因子HIF-1が重要な役割を担っていることが解明されている<sup>1,2</sup>。しかしながら、HIF-1を活性化する遺伝子ネットワークは十分に解明されておらず、有効な治療法を確立する上で、またがん患者の予後を予測する上で大きな障壁となっている<sup>3</sup>。この様な背景の下、我々は、新規のHIF-1活性化因子としてubiquitin C-terminal hydrolase L1 (UCHL1)を同定、上述の問題を克服する手がかりを得た<sup>4</sup>。本研究ではUCHL1がHIF-1を活性化する詳細なメカニズムを解明すること、およびUCHL1の腫瘍内発現量がん患者の予後を予測するためのマーカーとして活用できるか否かを検証することを目的に研究を展開した。

## 結 果

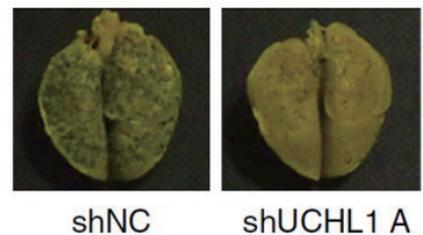
まず我々は、UCHL1がHIF-1を活性化する作用点を同定するための研究を展開した。HIF-1 $\alpha$ 遺伝子(HIF-1遺伝子の $\alpha$ サブユニット)のプロモーター活性、HIF-1 $\alpha$ 遺伝子の翻訳効率、HIF-1 $\alpha$ タンパク質の安定性、HIF-1 $\alpha$ タンパク質の転写活性化能のそれぞれをルシフェラーゼ発光強度としてモニターできる実験系を活用し、UCHL1にHIF-1 $\alpha$ を安定化する機能があることを見出した。この安定化が、フォンヒッペルリンドウ遺伝子(VHL)によるHIF-1 $\alpha$ のユビキチン化の解除、すなわちHIF-1 $\alpha$ の脱ユビキチン化に依存することを、免疫沈降実験によって明らかにした。また、HIF-1の下流遺伝子を対象にした解析を通して、UCHL1によってHIF-1が活性化した場合に、がん細胞の転移・浸潤を司る一連の遺伝子群の発現が誘導されることを見出した。がん細胞を免疫不全マウスの尾静脈に投与することでがんの遠隔転

移を再現する実験モデルを活用し(第1図)、UCLH1を過剰発現した場合にマウス由来乳がん細胞株EMT6の肺転移能が亢進することを明らかにした。逆に、マウスメラノーマ由来B16-F10細胞内で高発現している内在性UCLH1の発現をノックダウンした場合に、同細胞の肺転移能が有意に低下することを確認した(第2図右)。さらに、UCLH1によるEMT6細胞の肺転移が、HIF-1阻害剤YC-1の投与やHIF-1  $\alpha$  遺伝子のノックダウンによって抑制されたことから、UCLH1がHIF-1の活性化を介してがんの遠隔転移を亢進していることが証明された。加えて、UCLH1阻害剤LDN57444がHIF-1活性を抑制する作用を持つことや、乳がん細胞の肺転移を有意に抑制する作用を持つことを明らかにし、新たな治療法の確立に向けた道を拓いた。

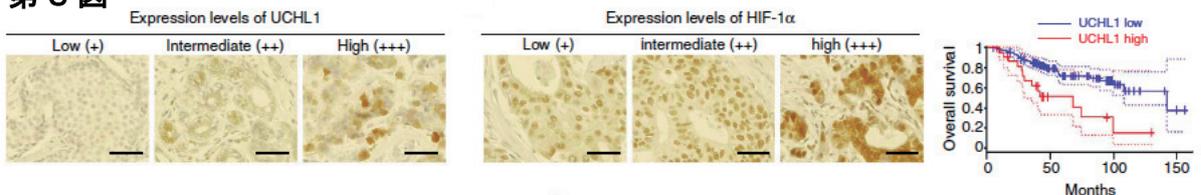
第1図



第2図



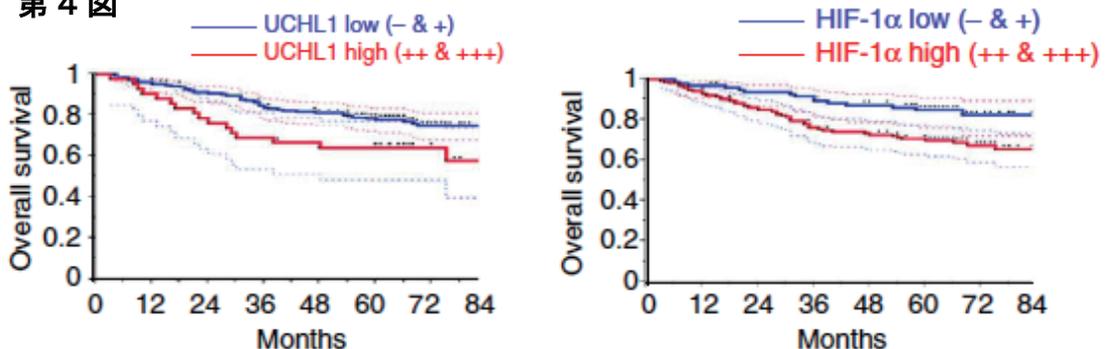
第3図



最後に、京都大学医学部附属病院で採集したヒト由来の腫瘍サンプルを対象に免疫組織染色を実施し、UCLH1やHIF-1  $\alpha$  の腫瘍内発現量が、がん患者の生命予後不良と相関するかを検証した。この臨床研究を通して、UCLH1の発現量がHIF-1  $\alpha$  タンパク質の腫瘍内発現レベル、および乳がん患者(第3図)や肺がん患者(第4図)の生命予後不良と相関することを確認した。

UCLH1を同定した遺伝学的スクリーニング実験を繰り返すことで、lymphocyte antigen 6 locus E (LY6E) 遺伝子を新規HIF-1活性化因子として発見することが出来た。本研究に付随する研究成果として特筆すべきである<sup>5</sup>。

第4図



## 考 察

以上の研究結果は、UCHL1がHIF-1の活性化を介してがんの遠隔転移能を亢進する作用を持つことを示している。また、UCHL1を予後予測マーカーや治療標的として活用し得ることを示している。

## 要 約

がんの転移はがん患者の主要な死因の一つで、精力的ながん研究を通して克服すべき課題である。これまでの基礎研究および臨床研究から、低酸素誘導性因子1 (HIF-1) が、がんの遠隔転移の成立において重要な役割を果たすことが指摘されていたが、HIF-1を活性化してがんの転移を導く遺伝子ネットワークは解明されておらず、有効な治療法を確立する上で大きな障害となっていた。本研究で我々は、HIF-1活性化因子を網羅的にスクリーニングする遺伝学的手法を確立し、UCHL1を同定した。そして、UCHL1がHIF-1を活性化することによって、がん細胞の転移能が亢進すること、逆にUCHL1の機能を阻害した場合に、遠隔転移発生率が有意に低下することを見出した。また、京大病院の保有する臨床検体を対象にした研究を展開することで、UCHL1の腫瘍内発現量が、がん患者の予後不良と正に相関することを明らかにした。以上の研究成果により、「がんの転移を抑制するための標的分子として、また、がん患者の予後を予測する指標 (マーカー) として、UCHL1を活用できること」が世界で初めて示された。がんの完治を可能にする新たな診断・治療法の開発に繋がることが期待される。

## 文 献

1. Barker, H. E., Paget, J. T., Khan, A. A., Harrington, K. J. The tumour microenvironment after radiotherapy: mechanisms of resistance and recurrence. *Nat Rev Cancer* **15**, 409-425 (2015) .
2. Baumann, M., *et al.* Radiation oncology in the era of precision medicine. *Nat Rev Cancer* **16**, 234-249 (2016).
3. Harada, H. Hypoxia-inducible factor 1-mediated characteristic features of cancer cells for tumor radioresistance. *Journal of radiation research* **57 Suppl 1**, i99-i105 (2016) .
4. Goto, Y., *et al.* UCHL1 provides diagnostic and antimetastatic strategies due to its deubiquitinating effect on HIF-1alpha. *Nat Commun* **6**, 6153 (2015) .
5. Yeom, C. J., *et al.* LY6E: a conductor of malignant tumor growth through modulation of the PTEN/PI3K/Akt/HIF-1 axis. *Oncotarget*, (2016) .