

# 研究報告書

平成30年度：A課題

2020年 7月 31日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 鹿児島大学病院

住所 鹿児島県鹿児島市桜ヶ丘 8-35-1

研究者氏名 吉野裕史



(研究課題)

ユビキチンプロテアソーム系を標的とした進行性腎細胞癌に対する新規治療戦略の構築

平成31年1月24日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

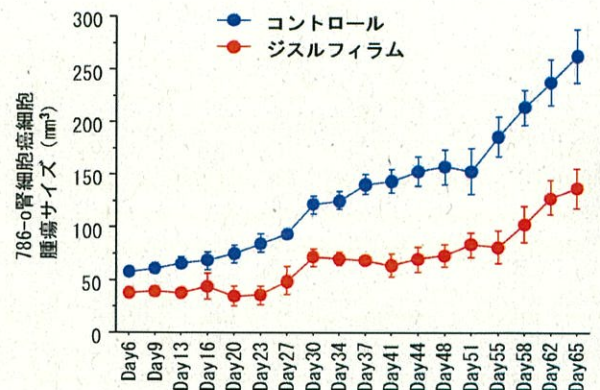
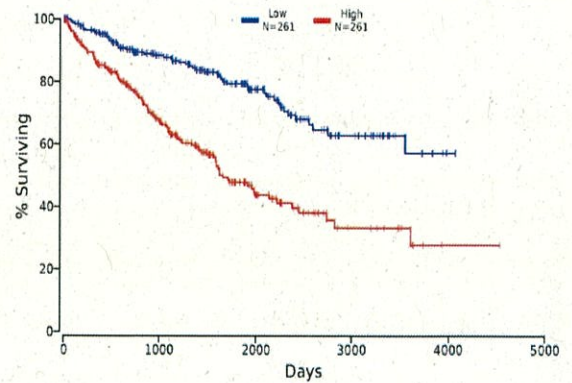
## 【研究の背景と目的】

ジスルフィラムはアルコール依存症に対する治療薬であるが、最近、NPL4を介したジスルフィラムの抗腫瘍効果が報告された(Nature 2017;552:194-199)。NPL4はユビキチンプロテアソーム系に関与するタンパク質でジスルフィラムにより阻害されると、細胞は不良タンパク質を分解できず細胞死に至る。しかし、腎細胞癌においてジスルフィラムやNPL4に関連する報告はほとんどなく、更にユビキチンプロテアソーム系を標的とする治療は、mTOR阻害剤、血管新生阻害剤、免疫チェックポイント阻害剤のような既存の腎細胞癌治療薬とは全く異なる。また、我々は以前、セリン生合成経路の第一段階を触媒しているPHGDHの遺伝子増幅群が腎細胞癌の予後不良因子であることを報告した(Yoshino et al. Cancer Res 2017)が、マウスモデルを用いた予備実験においてジスルフィラムを投与したヒト腎細胞癌細胞株ではセリン生合成経路の抑制が示唆された。そこで、腎細胞癌におけるジスルフィラムによるNPL4を標的とした治療の可能性の探索と、それらに関わる癌シグナル経路を解明し、新たな治療戦略の基礎データを提示することを本研究の目的とした。ドラッグリポジショニングにより腎細胞癌に対して新たな治療戦略の可能性を提示できれば、腎細胞癌の治療費抑制にも貢献できると考える。

## 【研究結果】

NPL4についてTCGAデータベースを用いて臨床統計解析を行ったところ、NPL4の発現は正常(n

=72)と比べて腎癌患者(n=534)において亢進していた。また、NPL4高発現群(n=261)は低発現群と比べて全生存期間が有意に低下していた(右上図)。腎癌細胞株においてNPL4をsi-RNAやジスルフィラムで阻害すると、対照細胞と比べアポトーシス誘導を介した増殖能の有意な低下を認めた。また、ジスルフィラムを投与した細胞ではNPL4の核内凝集を認め、ジスルフィラムのNPL4を介した抗腫瘍効果の作用機序が示された。更に、増殖アッセイにおいて、ジスルフィラムにスニチニブを併用することで相加効果を認めた。Xenograftアッセイでもコントロール群と比べてジスルフィラム単独群において有意な腫瘍縮小効果を認め(右下図: Xenograftモデル)、更にスニチニブとの併用群で腫瘍縮小の相加効果を認めた。最後にXenograftの腫瘍片を用いたプロテオミクス解析を行い、ジスルフィラム投与群ではセリンの合成に必要な酵素の一つであるPSAT1やアルドース還元酵素であるAKR1B1の発現が抑制されていることが分かり、ジスルフィラムの新たな作用機序の可能性が示された。以上の結果をまとめ、以下の通り論文発表した(Yoshino H. PLoS One, 2020)。



#### 【学会発表】

吉野裕史. ドラッグリポジショニングを目的とした腎細胞癌に対する新規治療戦略の構築. 第107回日本泌尿器科学会総会, 名古屋市, 4.18, 2019.

#### 【本研究助成関連の査読付き論文】

Yoshino H, Yamada Y, Enokida H, Osako Y, Tsuruda M, Kuroshima K, et al. Targeting NPL4 via drug repositioning using disulfiram for the treatment of clear cell renal cell carcinoma. *PLoS One*. 2020;15(7):e0236119. Epub 2020/07/16. doi: 10.1371/journal.pone.0236119. PubMed PMID: 32667929.

#### 【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。