



Title	SHARPIN is a novel gene of colorectal cancer that promotes tumor growth potentially via inhibition of p53 expression
Author(s)	中野, 祐輔
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101822
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	中野 祐輔
論文題名 Title	<i>SHARPIN</i> is a novel gene of colorectal cancer that promotes tumor growth potentially via inhibition of p53 expression (SHARPINはp53の発現抑制を介して腫瘍増殖を促す大腸がんの新規遺伝子である)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Objective)〕</p> <p>大腸癌 (CRC) は世界的に高い死亡率を示す疾患であり、新たな治療法の開発が急務である。ユビキチン-プロテアソームシステム (UPS) は細胞内のタンパク質分解を介してタンパク質の発現レベルを調節する重要な機構であり、特にE3ユビキチンリガーゼは、基質特異的なユビキチン化を触媒することで癌の進行に深く関与している。また、染色体の増幅、特に染色体8qの増幅はCRCの発生において重要な役割を果たすことが知られている。本研究では、CRCにおいてDNAコピー数増幅により過剰発現し、腫瘍増殖を促進するE3ユビキチンリガーゼ関連遺伝子を同定し、その臨床的および生物学的意義を明らかにすることを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>TCGA(The Cancer Genome Atlas)データセットを用いて、CRCにおいてDNAコピー数とmRNA発現が正の相関を示し、かつ高発現が予後不良と関連するE3ユビキチンリガーゼ関連遺伝子をスクリーニングした。その結果、染色体8qに位置するShank-associated RH domain interactor (SHARPIN)を候補遺伝子として同定した。パスウェイ解析の結果、<i>SHARPIN</i>高発現群では、アポトーシスやp53関連のパスウェイが有意に濃縮されていた。</p> <p>CRC患者111例の腫瘍組織と正常組織からRNAを抽出し、RT-qPCR(reverse-transcription quantitative polymerase chain reaction)を行ったところ、<i>SHARPIN</i>のmRNA発現は腫瘍組織で有意に高く ($P<0.005$)、免疫組織化学染色でも、SHARPINは腫瘍組織で高発現を示した。また、臨床病理学的因子および<i>SHARPIN</i>の発現と予後の関連性について検討したところ、多変量解析において<i>SHARPIN</i>の高発現は独立した予後不良因子であった ($HR=3.29$, $P<0.01$)。</p> <p>次に、SHARPINノックアウトCRC細胞 (RK0、LoVo) と過剰発現CRC細胞 (HCT116) を用いて、SHARPINの生物学的意義を検討した。MTTアッセイおよびコロニー形成アッセイでは、SHARPINノックアウトにより細胞増殖が有意に抑制され ($P<0.005$)、過剰発現により細胞増殖が有意に促進された ($P<0.005$)。アポトーシスアッセイでは、SHARPINノックアウト細胞でアポトーシスが促進され ($P<0.005$)、過剰発現細胞では抑制された ($P<0.005$)。さらに、細胞周期解析では、SHARPINノックアウト細胞でG1/S期移行が阻害された。ウェスタンブロット解析では、SHARPINノックアウトによりMDM2の発現が低下し、p53の発現が増加した。一方、SHARPIN過剰発現細胞ではMDM2の発現が増加し、p53の発現が低下した。</p> <p>さらに、BALB/c nude miceにSHARPINノックアウト細胞と過剰発現細胞を皮下移植したところ、ノックアウト細胞を移植したマウスでは腫瘍増殖が有意に抑制され ($P<0.01$)、過剰発現細胞を移植したマウスでは腫瘍増殖が有意に亢進した ($P<0.01$)。皮下腫瘍の免疫組織化学染色では、SHARPINノックアウト腫瘍ではp53の発現が増加し、過剰発現腫瘍では減少した。</p> <p>〔考察(Discussion)〕</p> <p>これまでに、NEDD4-1などのE3ユビキチンリガーゼがMDM2をK63型のユビキチン鎖で修飾し、MDM2/MDMX複合体によるK48結合の分解性ユビキチン鎖と拮抗することで、自己ユビキチン化が抑制され、MDM2の安定性を高めることが報告されている。このメカニズムはMDM2の分解を防ぎ、その結果p53の分解を促進する。SHARPINも同様に、単独または他のE3リガーゼと協調してMDM2にK63型ユビキチンを付加し、その安定性を高めることで、MDM2依存的にp53の分解を誘導し、アポトーシスの抑制と細胞周期の進行を促進して腫瘍増殖に寄与する可能性がある。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>我々は、SHARPINがCRCにおいて染色体8qの増幅により過剰発現し、MDM2を介したp53の発現抑制を通して、腫瘍の増殖および進行に寄与することを明らかにした。本研究により、SHARPINはCRCの新たな治療標的および予後マーカーとして有用である可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中野 祐輔			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	土岐 祐一郎 等 名
	副 査	大阪大学教授	奥山 宏臣 等 名
	副 査	大阪大学教授	猪俣 寿典 等 名
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>本研究では、大腸癌（CRC）における染色体8q上の遺伝子であるSHARPINの臨床病理学的、生物学的意義を明らかにすることを目的としている。SHARPINはコピー数増幅によって高発現しており、臨床検体を用いた免疫組織学的染色、空間トランスクリプトミクス解析およびシングルセルRNAシーケンスによる包括的な解析により腫瘍組織で高発現していることが確認された。さらに、その高発現は予後不良の独立した予測因子であることが示された。また、SHARPINの過剰発現はMDM2の発現上昇を介してp53の発現を抑制し、細胞周期進行やアポトーシス抑制を通じて腫瘍増殖を促進することが明らかとなった。これらの結果から、SHARPINはCRCの進展に関与する新規の治療標的および予後バイオマーカーとしての可能性が示唆された。</p> <p>本研究はInternational Journal of Oncology誌に掲載され、学位の授与に値すると考えられる。</p>			