

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20073

研究課題名(和文) Hsp90とFGFR3を同時標的とした膀胱癌に対する新規分子標的療法の樹立

研究課題名(英文) Development of novel molecular targeted therapy for bladder cancer using Hsp90 and FGFR3 inhibitors

研究代表者

田中 一 (TANAKA, Hajime)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50748358

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：化学放射線療法を施行した筋層浸潤膀胱癌の組織を解析し、これと治療効果を照らし合わせることで、どのような膀胱癌により良く化学放射線療法が効くのかを調べた。その結果、サイクリンB1という蛋白質を多く発現している、すなわち腫瘍細胞の増殖が盛んな癌ほど、化学放射線療法が良く効くことが分かった。近年注目を集めている膀胱癌のサブタイプ分類を当てはめると、より悪性度が高く、本来は予後不良と考えられてるサブタイプの癌ほど、化学放射線療法に良く反応することが分かった。さらに、そのような癌を有する患者の予後が、化学放射線療法を組み込んだ治療法によって改善される可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To examine key determinants of sensitivity to chemoradiotherapy (CRT) of bladder cancer, we analyzed the tumor specimens of muscle-invasive bladder cancer (MIBC) patients who received CRT, focusing on protein expressions as assessed through immunohistochemistry, and also on the cancer subtypes which had been defined in a previous study based on the immunohistochemistry findings. These analyses demonstrated that a higher expression of Cyclin B1, which represents cell proliferation status of tumor, and the cancer subtypes with a higher malignant potential were significantly correlated with more favorable CRT sensitivity. In the patient cohort receiving induction CRT followed by partial or radical cystectomy, the patients with the highly aggressive subtypes showed survival outcomes equivalent to those with a less aggressive subtype. The comparison of survival outcomes to the previous studies suggested that induction CRT positively affected the survivals of MIBC patients in our series.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：筋層浸潤膀胱癌 化学放射線療法 治療感受性

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦では、年間12000例の患者が新規に膀胱癌と診断され、そのうち5000例が膀胱癌により死亡している。筋層浸潤癌の5年生存率は60%、転移性癌では6%とされ、これらに対する新規治療戦略の開発が求められる。筋層浸潤膀胱癌に対する標準治療は膀胱全摘除であるが、手術単独では良好な治療成績が得られず、術前補助化学療法の施行が広く推奨されている。しかしながら、術前補助療法が奏効しない患者も存在し、また特に局所進行例においては、いまだ十分な治療成績向上が得られていない。転移性癌に関しては、新規抗癌剤を用いても、なおその予後は不良である。

(2) 現在、多くの癌種において、特定のシグナル蛋白を阻害する分子標的薬が臨床使用されているが、膀胱癌に対して有効な分子標的治療は未だ確立されていない。線維芽細胞増殖因子レセプター(Fibroblast growth factor receptor 3: FGFR3)は、膀胱癌の増殖・分化に重要な役割をもつとされ、筋層浸潤膀胱癌においてはこれが過剰発現していることが知られている。これより、膀胱癌における治療標的蛋白の候補として注目される一方、FGFR3阻害薬単剤での治療効果は限定的という見解もある。申請者の所属するグループでは、熱ショック蛋白90(Hsp90)をはじめとする分子シャペロンを標的とした癌治療耐性の克服について、これまで重点的に研究を行ってきた。Hsp90を阻害することで、FGFR3とその下流のシグナル(RAS/MAPキナーゼ系およびPI3K/Aktシグナル伝達系)を網羅的に阻害することができ、FGFR3阻害剤とHsp90阻害剤の併用は、筋層浸潤膀胱癌あるいは転移性癌に対する、理想的な分子標的治療となり得る。

(3) 申請者の所属するグループでは、1997年より、筋層浸潤膀胱癌に対して、適切な症例選択のもと、導入化学放射線療法施行後に膀胱部分切除または全摘除を行うという集学的

治療を行っている。過去の研究結果からは、特に局所進行癌において、本治療戦略が患者の生命予後改善に寄与する可能性が示唆された(Koga et al. BJUI 2009)。

(4) 新規治療戦略の開発と並び、症例毎の治療耐性および感受性の予測、これに基づく適切な治療選択が、進行膀胱癌の治療成績向上を求める上で重要な課題である。近年、膀胱癌における分子サブタイプ分類が注目を集めており、サブタイプ毎の治療感受性の解析、これに基づく治療戦略構築の流れが加速している。分子サブタイプは、本来 mRNA 発現の網羅的解析にて規定されるが、臨床腫瘍検体において免疫組織化学染色を用いて重要蛋白の発現を解析し、これをもとにサブタイプ分類を再現する試みもなされている(Sjodahl G, Am J Pathol 2013)。この研究では、免疫組織化学染色で判定されるCyclin B1およびKeratin 5の発現、顕微鏡的腫瘍形態、および悪性度によって、urobasal (Uro)、genomically unstable (GU)、squamous cell cancer-like (SCCL)の3タイプに膀胱癌を分類している。GUおよびSCCLは、Uroと比較して本来高悪性度であり、患者は不良な予後を呈するとされる。

2. 研究の目的

(1) 膀胱癌におけるFGFR3の細胞増殖、浸潤、および治療耐性(化学療法および化学放射線療法耐性)への関与を明らかにすること

(2) FGFR3阻害剤とHsp90阻害剤を併用した膀胱癌に対する有効な分子標的治療を確立すること

3. 研究の方法

上述した研究の目的(1)と関連し、膀胱癌の治療耐性および感受性に関与している因子を、より網羅的に検討することから開始した。研究方法の詳細は以下の通りである。

(1) 化学放射線療法施行後に膀胱部分切除または全摘除を行うプロトコルに基づいて

治療された、筋層浸潤膀胱癌 118 例の臨床腫瘍検体を用いた。

(2) 化学放射線療法施行前の経尿道的手術にて採取された膀胱癌検体を、後方視的に解析した。治療感受性を規定しうる重要蛋白の発現を、免疫組織化学染色を用いて解析し、これと化学放射線療法奏効率の関係を検討した。

(3) 研究開始当初の背景(4)で記載した免疫組織化学染色に基づく膀胱癌のサブタイプ分類を参照し、Uro、GU、SCCL の 3 タイプに患者を分類し、これと化学放射線療法奏効率、および生命予後の関係を検討した。

(4) 化学放射線療法奏効の評価は、治療後の各種検査所見 (CT 検査、MR 検査、膀胱鏡および経尿道的生検)、およびその後に施行された膀胱部分切除あるいは全摘除の検体を用いて、臨床的、病理学的に行った。

4. 研究成果

(1) 筋層浸潤膀胱癌における蛋白発現と化学放射線療法感受性の関係：

先行研究の結果を参照し、特に Cyclin B1 と Keratin 5 に注目して、その発現を解析した。過去の報告で規定されている方法 (Sjodahl G, Am J Pathol 2013) に準じて発現の有無を判定したところ、118 例中 42 例 (36%)、35 例 (30%) の患者が、それぞれ Cyclin B1 陽性、Keratin 5 陽性を呈していた (図 2)。Cyclin B1 陽性の患者は、有意に良好な化学放射線療法感受性を有しており、多変量解析においても、Cyclin B1 の高発現が、高い化学放射線療法奏効率の独立した予測因子であった。一方、Keratin 5 の発現と化学放射線療法感受性の間には、有意な相関が見られなかった。本結果は、病理学的に評価された化学放射線療法奏効をアウトカムとしても同様であった。

(2) 筋層浸潤膀胱癌におけるサブタイプと

化学放射線療法感受性および生命予後の関係：

上述した膀胱癌のサブタイプ分類に基づき、118 例中 26 例 (22%)、61 例 (52%)、31 例 (26%) の患者が、それぞれ Uro、GU、SCCL に分類された。本来高悪性度かつ予後不良とされる GU および SCCL に分類された患者は、Uro と比較し、有意に良好な化学放射線療法感受性を有していた。多変量解析においても、GU および SCCL のサブタイプが、高い化学放射線療法奏効率の独立した予測因子であった。本結果は、病理学的に評価された化学放射線療法奏効をアウトカムとしても同様であった。

生命予後の解析では、Uro、GU、SCCL サブタイプの患者群の 5 年癌特異的生存率は、それぞれ 84%、77%、72% であり、群間に有意な差を認めなかった (図 2)。多変量解析では、良好な化学放射線療法奏効が、良好な癌特異的生存率の独立した予測因子であり、膀胱癌のサブタイプは生命予後に影響を与えていなかった。

(3) 考察と今後の展望

本研究では、筋層浸潤膀胱癌において、細胞増殖に關与する Cyclin B1 の高発現、あるいは、より悪性度の高い GU および SCCL サブタイプが、良好な化学放射線療法感受性と有意に相関していた。さらに、本研究の対象である、化学放射線療法施行後に膀胱部分切除または全摘除を行うプロトコルにて治療された患者群においては、本来不良な生命予後を呈するとされる GU および SCCL サブタイプに属する患者が、Uro の患者と同等に、比較的良好な癌特異的生存率を呈していた。

筋層浸潤膀胱癌に対する標準療法は膀胱全摘除であるが、現在、化学放射線療法が、膀胱温存を目的とした有用な代替療法として認知されている。膀胱温存療法を実施する上では、化学放射線療法の効果予測に基づく適

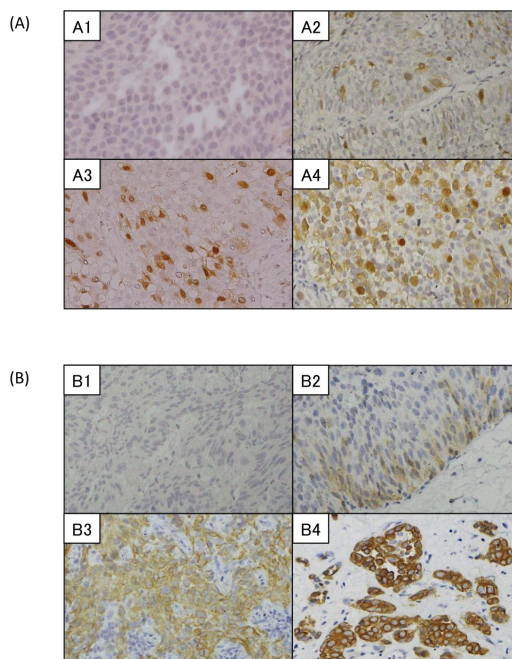
切な症例選択が必要である。本研究結果は、この点において、筋層浸潤膀胱癌の適切な治療選択に寄与しうる。本研究では、化学放射線療法後の膀胱部分切除または全摘除の検体を用いることで、その治療効果が病理学的にも評価されている。化学放射線療法の治療効果予測を目的とした類似研究と比較し、より正確な治療効果判定に基づいてその予測因子解析がなされている点は、本研究の強みの一つである。

膀胱癌の分子サブタイプ分類とこれに基づく治療戦略構築は、近年注目を集めている重要なテーマである。過去の報告では、本研究の SCCL に相当する患者群の 5 年癌特異的生存率は 40%程度と報告されている。一方、化学放射線療法 + 膀胱部分切除または全摘除にて治療された本研究の患者群では、SCCL の患者の 5 年癌特異的生存率は、72%と比較的良好であり、先に述べたように、Uro の患者の生存率と同等であった。異なる患者背景、また、本研究で採用した免疫組織化学染色に基づく分類と本来の分子サブタイプの相違は考慮する必要があるが、本研究結果は、本来高悪性度、予後不良な筋層浸潤膀胱癌の患者において、その良好な化学放射線療法感受性が治療成績向上に寄与しうることを示唆し、膀胱の外科的切除に化学放射線療法を先行させる、筋層浸潤膀胱癌に対する新たな治療戦略の有用性を示唆する。

本研究は、臨床腫瘍検体を用いた免疫組織化学染色の所見に基づいており、速やかに臨床応用できるという利点がある一方、膀胱癌の分子サブタイプに真に言及するには、mRNA 発現の網羅的解析によるサブタイプングに基づく検証が必須と考えられる。この結果をもとに、化学放射線療法を軸とした、筋層浸潤膀胱癌に対する新たな治療戦略を提唱していきたい。本研究結果は、現在 International Journal of Radiation Oncology * Biology * Physics 誌に論文投稿

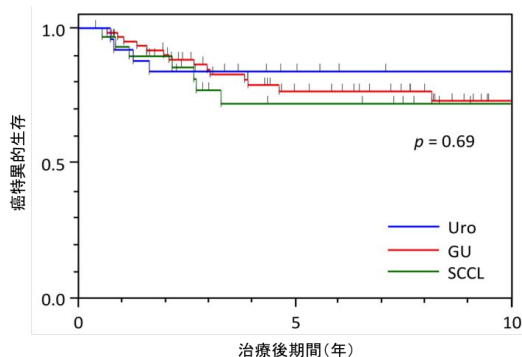
中である。

図 1



(A) Cyclin B1 の免疫組織化学染色。Cyclin B1 の発現陽性率：(A1) 0%、(A2) 10%、(A3) 30%、(A4) 50%。17%以上を発現陽性と判定した。
 (B) Keratin 5 の免疫組織化学染色。染色の程度 (Labeling intensity : LI) を 0/1/2/3 (それぞれ染色なし/弱/中/強) の 4 段階で評価し、これに発現陽性率を掛け合わせて Tumor cell score を算出した。Keratin 5 の Tumor cell score : (B1) 0 (LI=0)、(B2) 0.1 (LI=1, 10%)、(B3) 1.0 (LI=2, 50%)、(B4) 1.8 (LI=3, 60%)。Tumor cell score 0.57 以上を発現陽性と判定した。

図 2



膀胱癌サブタイプと癌特異的生存率の関係。

サブタイプ間で、癌特異的生存率に有意な差を認めなかった。Uro：urobasal、GU：genomically unstable、SCCL：squamous cell cancer-like。

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0件)

〔学会発表〕(計1件)

1. 田中一、吉田宗一郎、井上雅晴、伊藤将也、木島敏樹、横山みなと、石岡淳一郎、松岡陽、齋藤一隆、木原和徳、藤井靖久：膀胱癌の免疫組織化学染色に基づく分子サブタイプ分類と化学放射線療法感受性及び予後の解析：筋層浸潤膀胱癌に対する新たな治療戦略

に向けて、第105回日本泌尿器科学会総会、2017年。

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6．研究組織
(1)研究代表者
田中 一 (TANAKA, Hajime)