

令和 2 年 7 月 2 日現在

機関番号：85410

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11139

研究課題名(和文) 尿路上皮がんの抗がん剤耐性におけるp38 MAPKの役割と新規阻害薬の応用開発

研究課題名(英文) p38 MAPK is involved in the development of resistance to chemotherapy in urothelial carcinoma

研究代表者

神明 俊輔 (Shinmei, Shunsuke)

独立行政法人国立病院機構広島西医療センター(臨床研究部)・泌尿器科・医長

研究者番号：70749936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：p38の尿路上皮癌における化学療法耐性および治療標的としての意義を明らかにすることを目標に、臨床病理検体を用いたp38およびリン酸化p38の発現を検討した。STAT1シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、細胞周期の抑制によって抗がん剤耐性獲得に関与する一方で、抗がん剤併用でのSTAT1発現抑制は抗がん剤感受性を回復させることから、抗がん剤とSTAT1抑制の併用療法は抗がん剤耐性を克服する新規治療法となる可能性があると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転移を有する進行性尿路上皮癌の治療は主に化学療法が用いられるが、最終的には化学療法耐性となり十分な治療効果を得ているとは言い難い。我々は尿路上皮癌におけるp38の発現と化学療法耐性に着目し解析を行い、尿路上皮癌におけるp38のリン酸化は化学療法耐性と関係しp38のリン酸化を標的とする治療は抗がん剤耐性を克服する新規治療法となる可能性があると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated the clinical significance of p38 MAPK in bladder cancer, in particular focusing on the impact of states of p38 MAPK on chemotherapy resistance. Our findings revealed that p38 MAPK was activated in gemcitabine resistant cell lines. p38 MAPK might contribute chemoresistant manner and have high potential as a therapeutic target of chemo-resistant urothelial carcinoma.

研究分野：泌尿器科

キーワード：尿路上皮癌 p38 化学療法耐性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

転移を有する進行性尿路上皮癌の治療は主に化学療法が行われるが、その効果は限定的で十分な治療効果を得ているとは言い難い、また抗がん剤耐性尿路上皮がんは予後不良で、機序の解明と新規治療法の確立は急務である。また抗がん剤耐性膀胱癌に対する新規治療法の確立には、その発症機序の解明が不可欠であり、優れた病態モデルや生体内環境に即した実験系の樹立が重要である。

#### 2. 研究の目的

私たちはこれまでに、尿路上皮がんの抗がん剤耐性細胞株を樹立し、抗がん剤耐性に関わる数々の遺伝子を同定してきた。なかでも p38 MAPK-Smad3 経路が抗がん剤耐性に重要な役割を果たすことを見いだしてきた。さらに、マウス慢性骨髄性白血病 (CML) 幹細胞においても p38 MAPK-Smad3 経路が抗がん剤耐性に関与し創薬ターゲットとなる可能性があることを実証した。これらの研究成果を踏まえ、本研究では p38 MAPK-Smad3 経路に着目した尿路上皮がんの抗がん剤耐性機序の解明と Smad3 選択的 p38MAPK アロステリック阻害剤を創薬することで尿路上皮がんの新規治療法を確立することを目的とした。

#### 3. 研究の方法

尿路上皮がんにおける p38 MAPK-Smad3 の役割の解明を解明するために 12 種の尿路上皮がん細胞株と私たちがすでに樹立している 3 種類のゲムシタピンとシスプラチン耐性細胞株 (計 6 種) の細胞株で p38 MAPK-Smad3 経路の発現の状態を確認し細胞生物学的な機能解析をおこない、既存の p38 MAPK リン酸化阻害剤を付加した際の細胞増殖能、浸潤能、遊走能、及び遺伝子の変化について検討した。

#### 4. 研究成果

シスプラチンとゲムシタピン耐性株で p38 MAPK-Smad3 経路の発現を検討したが有意な結果を見出せなかったため、感受性株と比較して、高発現が認められた遺伝子に着目した。耐性株では IFN/STAT1 シグナルの下流遺伝子 (IFITM1, IFI27, IFI44L, IFI6, IFITM1, IFIT1, OAS2) が高発現していた。臨床検体である TCGA のデータベースでも STAT1 と下流遺伝子は共発現し、Basal squamous や Luminal infiltrating cluster で STAT1 が高発現する傾向にあった。その STAT1 シグナルは、乳がんでは抗がん剤投与がない場合は予後因子と関与せず、抗がん剤投与下では予後不良に関与することが報告されている。膀胱癌の public database でも、抗がん剤治療例のない症例では STAT1 シグナルは予後因子とならないが、術前 GC 療法症例では STAT1 亢進症例で予後が不良な傾向に変化した。自件例の STAT1 の免疫組織染色では、主に細胞質での STAT1 発現が認められるが、STAT1 シグナル亢進を示す核染色像も認められ、GC 療法前と比べ、GC 療法後に STAT1 の発現が上昇する傾向にあり、GC 療法後においてのみ STAT1 の核染色像が認められた。次に GC 療法が行われた転移性尿路上皮癌では、STAT1 高発現群は有意に予後不良であり、PD 症例で STAT1 が高発現する傾向が認められました。さらに、多変量解析をした結果、STAT1 の高発現は、予後不良因子として知られている転移部位や貧血、BMI などと比較しても独立した予後不良因子であった。膀胱癌臨床検体でも STAT1 高発現症例は GC 療法後に予後不良と関係することが示唆され、STAT1 の GC 療法の効果予測因子としての意義が明らかとなった。耐性株の STAT1 発現抑制による細胞増殖能を調べると、STAT1 発現抑制は細胞増殖能を亢進させ、細胞周期解析でも G1 期減少と S 期増加を認めた。細胞周期関連蛋白質を調べると、STAT1 発現抑制によって p27 の発現低下を認めた。耐性株において STAT1 シグナル亢進は、細胞周期抑制に働くことが明らかとなった。一方でシスプラチンもしくはゲムシタピン投与下で耐性株の STAT1 発現抑制を行うと、細胞増殖能は有意に抑制され、アポトーシスが増加する結果であった。STAT1 シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、細胞周期の抑制によって抗がん剤耐性獲得に関与する。一方で、抗がん剤併用での STAT1 発現抑制は抗がん剤感受性を回復させることから、抗がん剤と STAT1 抑制の併用療法は抗がん剤耐性を克服する新規治療法となる可能性があると考えている。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林 哲太郎
2. 発表標題 前立腺癌においてprotocadherin B9はピカルタミド耐性に関わり、予後不良因子である
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林哲太郎、郷力昭宏、神明俊輔、ピーターブラック、井上省吾、亭島淳、松原昭郎
2. 発表標題 STAT1 シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、STAT1発現抑制が抗がん剤感受性を回復させ、新規併用治療法となる
3. 学会等名 第105回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	松原 昭郎  (Matsubara Akio)  (10239064)	広島大学・医系科学研究科(医)・専門研究員   (15401)	
研究分担者	亭島 淳  (Teishima Jun)  (20397962)	広島大学・医系科学研究科(医)・准教授   (15401)	

## 6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	安井 弥 (Yasui Wataru) (40191118)	広島大学・医系科学研究科(医)・教授  (15401)	
研究分担者	林 哲太郎 (Hayashi Tetsutaro) (60612835)	広島大学・医系科学研究科(医)・講師  (15401)	
研究分担者	仲 一仁 (Naka Kazuhiro) (70372688)	広島大学・原爆放射線医科学研究所・准教授  (15401)	