

令和元年5月27日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16804

研究課題名(和文)尿路上皮癌におけるリゾフォスファチジン酸の機能解析と新規治療の開発

研究課題名(英文)Functional analysis of lysophosphatidic acid in urothelial carcinoma and establishment of novel treatment.

研究代表者

片岡 政雄 (Kataoka, Masao)

福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：90554204

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：膀胱癌患者の経尿道的膀胱腫瘍切除術摘出標本を用いてリゾフォスファチジン酸受容体1(LPA1)発現解析を施行したところ、筋層浸潤性膀胱癌では有意にLPA1が発現亢進していることが確認された。そしてLPA1発現陽性群はLPA1発現陰性群に比べ術後の再発率が有意に高く($p < 0.05$)、LPA1発現陽性群は、陰性群に比べ有意に癌特異的生存率が低いことが確認された($p < 0.05$)。膀胱癌細胞株T24を用いた解析では、LPAはLPA1を介して浸潤能を亢進させることが確認された。さらにLPAはRho/ROCKの亢進、ミオシン軽鎖のリン酸化、ラメリポディアの形成促進に関与することが確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膀胱癌は時間的、空間的な多発性が特徴で、再発率が高いこと、そして再発時に進展する可能性が高いことが問題である。これまでは膀胱癌細胞に対する殺細胞効果を狙った抗がん剤治療が行われてきたが、近年では腫瘍免疫の研究の発展により免疫チェックポイント阻害剤による治療なども行われるようになってきた。しかし、膀胱癌の特徴である尿路内の播種に着目した細胞の遊走、接着に対する研究や創薬研究は十分とは言えない。本研究は尿中生理活性物質であるリゾフォスファチジン酸や細胞遊走に着目しているところに新規性があり、新規治療標的や新規治療薬開発に役立つ可能性がある。

研究成果の概要(英文)：It was confirmed that lysophosphatidic acid receptor 1 (LPA1) expression is significantly elevated in muscle invasive bladder cancer according to LPA1 expression analysis using a transurethral bladder tumor resection specimen of bladder cancer patients. And the recurrence rate after surgery is significantly higher in LPA1 positive group compared with the LPA1 negative group ($p < 0.05$). The LPA1 positive group was confirmed to have a significantly lower cancer-specific survival rate than the negative group ($p < 0.05$). Analysis using the bladder cancer cell line T24 confirmed that LPA increased invasion ability via LPA1. Furthermore, it was confirmed that LPA affected in the enhancement of Rho / ROCK, the phosphorylation of myosin light chain, and the promotion of the formation of lamellipodia.

研究分野：尿路上皮癌

キーワード：膀胱癌 リゾフォスファチジン酸 遊走

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) とリゾフォスファチジン酸 (LPA):

近年、G 蛋白質共役型受容体 (GPCR) の X 線結晶構造が明らかになり、GPCR シグナル伝達系の三次元構造の理解が急速に進んでいる。それに伴い、GPCR を標的とした創薬も大きな転換期を迎えている。リゾフォスファチジン酸 (LPA) は GPCR を受容体とする生理活性物質の一つで細胞増殖・遊走、がん浸潤、血管新生、炎症、臓器線維化、血小板凝集などに関与することが報告され、様々な疾患のバイオマーカーや治療のターゲットとして注目されている。

(2) リゾフォスファチジン酸受容体と癌:

LPA 受容体には 6 つのサブタイプが存在し、癌種によってその発現と機能は異なるとされている。膵臓癌では LPA 受容体 1 (LPA1) が高発現しており、細胞遊走に関与しているとされ、LPA2 は遊走を抑制する。乳癌でも LPA1 が細胞浸潤に関与しているとされ、卵巣癌では LPA2 と LPA3 発現が癌の進行に重要な役割を果たしていると報告されている。

(3) リゾフォスファチジン酸と膀胱癌:

私達は、膀胱癌細胞株において LPA1 が Rho/ROCK を亢進、ミオシン軽鎖のリン酸化により lamellipodia を形成することで浸潤能を亢進させることを確認し報告した。

(4) 尿とリゾフォスファチジン酸 (LPA):

尿中には LPA 産生に必要なリゾフォスホリパーゼ D 活性を有する酵素 Autotaxin が存在している。そして尿中には 0.02-0.86 μ M の濃度の LPA が存在していると報告されている。しかし、尿路上皮癌患者の尿中の LPA 濃度について検討された報告は存在しない。

2. 研究の目的

尿路上皮癌の特徴は時間的、空間的な多発性であり、その高い再発率、進展率は重大な問題である。しかしながら、その再発、進展メカニズムは今だ解明されていないことが多いのが現状である。近年、細胞の運動、遊走に関与する生理活性物質の研究が注目を浴びており、中でもリゾフォスファチジン酸 (LPA) の細胞増殖・遊走、がん浸潤、血管新生、炎症などへの作用が注目され、様々な疾患のバイオマーカーとして注目されている。私たちはこれまでに、膀胱癌におけるリゾフォスファチジン酸受容体 1 (LPA1) の役割に注目し研究を行ってきた。今回の研究ではこれまでに行ってきた in vitro での研究成果を in vivo での研究に発展させ、尿路上皮癌の再発、浸潤メカニズムを解明するとともに、新規治療薬の開発を目指す。

3. 研究の方法

本研究は、尿路上皮癌の再発、進展メカニズムを解明するとともに、尿路上皮癌患者における LPA 受容体サブタイプ発現解析を行い、LPA や LPA 受容体の尿路上皮癌のバイオマーカーとしての可能性の解明などを行っていく。具体的には以下の 4 点から、膀胱癌の浸潤メカニズムを統合的に解析し、臨床応用に向けた研究を並行して行う。(1) 膀胱癌細胞株 T24 を用いて LPA 受容体下流のシグナル経路の解明や細胞浸潤、細胞間接着に関わる因子を探索する。(2) 膀胱癌モデルにおける LPA 受容体の発現抑制、阻害剤による進展抑制効果の確認を行う。(3) 免疫組織化学染色法や定量的リアルタイム PCR により尿路上皮癌組織における LPA 受容体サブタイプの発現解析を行う。(4) 尿路上皮癌患者と

正常対象の尿中 LPA 濃度を測定し、尿路上皮癌の診断やバイオマーカーとしての可能性を検討する。

4 . 研究成果

筋層非浸潤性膀胱癌 49 症例において、経尿道的膀胱腫瘍切除術後の摘出組織をリアルタイム PCR 法と免疫組織化学染色法により解析した。膀胱癌組織においてリゾフォスファチジン酸受容体 1 (LPA1) 陽性所見を認める症例が認められた。また正常膀胱粘膜では LPA3 が陽性であった。さらに膀胱の正常粘膜において LPA 合成酵素である Autotaxin (ATX) の発現を確認した。また、筋層非浸潤性膀胱癌症例に筋層浸潤性膀胱癌 15 症例も加えリアルタイム PCR 法と免疫組織化学染色法にて解析を行った。筋層浸潤性膀胱癌で有意に LPA1 発現が亢進していることを確認した。また、LPA2、LPA3 は筋層浸潤性膀胱癌、筋層非浸潤性膀胱癌いずれにおいても LPA1 ほどの発現は認められなかった。膀胱癌細胞株 T24 を用いたマトリゲルインベージョンアッセイ解析によると、生理的尿中濃度の LPA により T24 の浸潤能亢進が認められた。この浸潤能の亢進は siRNA による LPA1 のノックダウンや LPA1 阻害剤である Ki16425 により抑制された。LPA 存在下に膀胱癌細胞株 T24 のラメリポディアの形成が確認された。この形態学的変化は LPA1 のノックダウンや LPA1 阻害剤投与により抑制されることを確認した。膀胱癌細胞における接着能の解析のためゼラチンザイモグラフィによるマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) の測定解析を行った。T24 細胞株では MMP2、MMP9 とともに LPA 投与による発現の亢進は認められなかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

小島祥敬

Kojima Yoshiyuki

石橋啓

Ishibashi Kei

赤井畑秀則

Akaihata Hidenori

佐藤雄一

Satoh Yuichi

秦淳也

Hata Junya

胡口智之

Koguchi Tomoyuki

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。