

平成 22 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19791103

研究課題名（和文） 浸潤性膀胱癌に対する化学放射線療法治療効果予測モデル作成

研究課題名（英文） Heat shock protein 90 inhibitors overcome chemoradiotherapy resistance conferred by erbB2 and NF κ B overexpression in muscle-invasive bladder cancer

研究代表者

吉田 宗一郎（YOSHIDA SOICHIRO）

東京医科歯科大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80383280

研究成果の概要（和文）：浸潤性膀胱癌に対する化学放射線療法耐性克服は、患者の生命予後や膀胱温存による QOL の改善につながる。化学放射線療法を受けた症例の解析から、膀胱癌組織中の ErbB2, NF κ B が治療耐性を規定する蛋白の候補として選定した。膀胱癌細胞株に、ヒートショックプロテイン 90 (Hsp90) 阻害剤を使用したこれらの蛋白群の発現抑制により、化学放射線療法耐性が克服された。本研究は浸潤性膀胱癌の ErbB2, NF κ B の発現により、化学放射線療法の適切な治療対照群の選別の可能性、Hsp90 阻害剤による化学放射線療法耐性の克服の可能性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：Improvement of response of bladder cancer to chemoradiotherapy is expected not only to provide the patients a chance of bladder preservation but to improve their survival outcomes. We identified key molecules responsible for chemoradiotherapy resistance in clinical cohort. In the patients with muscle bladder cancer underwent radiotherapy plus concomitant cisplatin at low-dose (low-dose chemoradiotherapy, LCRT) as an induction therapy prior to curative surgery, overexpression of erbB2 and nuclear NF κ B p65 in transurethral biopsy specimens obtained prior to LCRT significantly and independently associates with LCRT resistance. Destabilizing erbB2 and inhibiting nuclear translocation of NF κ B by using Heat shock protein 90 (Hsp90) inhibitor; 17-DMAG, sensitizes bladder cancer cell lines (T24, UM-UC-3 and 5637) to *in vitro* LCRT by enhancing apoptosis. This sensitizing effect was not observed in primarily cultured normal human urothelial (NHU) cells. Pretreatment with Hsp90 inhibitor; 17-AAG, successfully overcame *in vivo* LCRT resistance of human bladder cancer xenograft of UM-UC-3 bladder cancer cells overexpressing erbB2 and NF κ B. Hsp90 inhibitors, simultaneously abrogating erbB2 and NF κ B pathways, tumor-selectively sensitize bladder cancer cells to LCRT and overcome LCRT resistance in preclinical models.

These results encourage clinical trials of Hsp90 inhibitors adjunct to chemoradiotherapy to improve oncological outcomes and QOL in patients with muscle bladder cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	0	1,600,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	510,000	3,810,000

研究分野：泌尿器科学

科研費の分科・細目：泌尿器科、放射線科

キーワード：浸潤性膀胱癌、化学放射線療法、anti-apoptotic protein

1. 研究開始当初の背景

本邦にて年間に12000例の膀胱癌患者が診断され、5000例が膀胱癌により死亡している。膀胱癌の1/3は筋層浸潤もしくは壁外浸潤を示す浸潤癌であり、標準治療である膀胱全摘出術による浸潤性膀胱癌全体(cT2-4)の5年生存率は約50%と予後不良である。そのため、浸潤性膀胱癌に対するより有効な治療法を確立させることが今後の重要な課題と考えられている。我々は同疾患に対する集学的治療として、1997年より術前にシスプラチン少量投与を併用した放射線療法を行ってきた。2007年までに約130例の治療を施行し、良好な治療成績、及び生命予後の向上が得られている。その成果に基づき、2000年以降は化学放射線療法により良好な治療効果が得られた症例に対しては積極的に膀胱の温存

を図ってきた。その結果、浸潤性膀胱癌に対する術前化学放射線療法は生命予後改善に貢献し、さらに、治療後治療効果が予後と有意に関連することが判明した。

2. 研究の目的

浸潤性膀胱癌に対する化学放射線療法のさらなる治療成績向上を実現するべく、その治療耐性を規定している蛋白群を選別することで、適切な治療対照群を選別する。さらに、治療耐性規定蛋白を抑制することで治療耐性克服を目指す。また、化学放射線治療効果を正確に判定するべく、膀胱癌を含む尿路上皮癌における拡散強調MRIの有用性についても検討を行う。

3. 研究の方法

(1)、近年、癌細胞の抗癌剤や放射線治療へ

の抵抗性獲得にアポトーシス制御の異常が深く関与していることが示されてきた。そのため、anti-apoptotic シグナル蛋白群 (特に Akt, survivin, NF κ B, 変異型 p53 など) が、浸潤性膀胱癌に過剰発現ないし活性亢進し、化学放射線療法の治療効果を規定していることが予想される。そのため、化学放射線療法が施行された浸潤性膀胱癌症例の診断時生検標本のパラフィン切片を利用した免疫染色を行い、組織中の anti-apoptotic シグナル蛋白群の発現を網羅的に解析し、さらに化学放射線療法の治療効果との関連を検討した。その結果、組織中の anti-apoptotic シグナル蛋白群 (ErbB2, NF κ B) の発現が、浸潤性膀胱癌の化学放射線療法耐性を規定する蛋白の候補として選定された。

(2), これらの anti-apoptotic シグナル蛋白群の化学放射線療法耐性への寄与を検討するため、低分化膀胱癌細胞株 (T24 cell, UM-UC-3 cell 及び 5637 cell) を用いた化学放射線療法 model を作成した。このモデルを使用し、クロノジェニックアッセイ、及びアポトーシスアッセイにて、Heat shock protein 90 (Hsp90) 阻害剤を使用した、ErbB2、NF κ B の発現抑制により、化学放射線療法耐性が克服されることを確認した。さらに、正常人尿路上皮初代培養細胞において、これらの蛋白群の発現抑制による影響が少ないことを同アッセイにて示した。

(3), さらに、低分化膀胱癌細胞株 (UM-UC-3 cell) を使用し、ヌードマウスの皮下膀胱癌モデルを作成し、同様に Hsp90 阻害剤を使用した、ErbB2、NF κ B の発現抑制により、化学放射線療法耐性の克服が得られることが確認された。

(4), また、低分化膀胱癌細胞株 (T24 cell) において、細胞質内で抗アポトーシス効果を担う Akt が化学放射線療法により核内に移行

すること、その Akt の核内移行が Hsp90 阻害剤により効果的に阻害されることを蛍光免疫染色法およびウエスタンブロット法を用い示した。様々な増殖因子により Akt の核内移行が誘導され、核内 Akt が抗アポトーシス効果を起こすとの報告があり、化学放射線療法により誘導される Akt 核内移行に対する、Hsp90 阻害剤による阻害効果は、Hsp90 阻害剤による化学放射線療法耐性克服の一機序となっているものと考えられた。

(5), 膀胱癌を含む尿路上皮癌における拡散強調 MRI の有用性を調べるべく、未治療の膀胱癌及び腎盂尿管癌症例における診断能の検討を行った。その結果、拡散強調 MRI は尿路上皮癌の診断において Accuracy が高く、優れていることが判明した。

(6), さらに、筋層浸潤性膀胱癌に対する化学放射線治療効果判定における拡散強調 MRI の有用性についても検討を行うべく、化学放射線療法後の拡散強調 MRI と組織学的治療効果判定と比較を行った。その結果、治療効果判定においても拡散強調 MRI は感度、Accuracy が高いことが示された。

4. 研究成果

(1), 本研究により、浸潤性膀胱癌の ErbB2、NF κ B の発現の程度の評価により、浸潤性膀胱癌に対する適切な治療対照群を選別する可能性が示された。

(2), さらに、Hsp90 阻害剤により同蛋白発現を抑制させることで、正常組織への影響を少なく、その化学放射線療法耐性が克服される可能性を示すものである。

(3), また、放射線被曝なく、造影剤を使用することなく撮影可能である、拡散強調 MRI により、膀胱癌を含む尿路上皮癌の診断および化学放射線治療の治療効果判定が可能となることが示された。

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4件)

① Yoshida S, et al. Initial experience of functional imaging of upper urinary tract neoplasm by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. Int J Urol. 15:140-3, 2008.

② Yoshida S, et al. Initial Experience of Diffusion-weighted Magnetic Resonance Imaging to Assess Therapeutic Response to Induction Chemoradiotherapy against Muscle-invasive Bladder Cancer. Urology. 75:387-91, 2010

③ Yoshida S, et al. C-reactive protein level predicts prognosis in patients with muscle-invasive bladder cancer treated with chemoradiotherapy. BJU Int. 101:978-81, 2008.

④ Yoshida S, et al. Female urethral diverticular abscess clearly depicted by diffusion-weighted magnetic resonance imaging. Int J Urol. 15:460-1, 2008.

[学会発表] (計4件)

① Yoshida S, et al. Functional imaging of upper urinary tract neoplasm by diffusion-weighted MRI. 23th annual EAU congress, Milan, March 26, Abs. #271, 2008.

② Yoshida S, et al. Multi-sequence magnetic resonance imaging prior to prostate biopsy: Correlation analysis using the pathological results of three-dimensional 26-core (3D26) biopsy.

24th annual EAU congress, Stockholm, Abs. #929, 2009.

③ Yoshida S, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diagnosis of upper urinary tract cancer. 25th Anniversary EAU Congress, Barcelona, Spain, Abs. #47, 16-20 April 2010.

④ 吉田宗一郎、他. 浸潤性膀胱癌に対する化学放射線療法の MRI による治療効果判定: 拡散強調画像の有用性、第 98 回日本泌尿器科学会総会、岩手、2010 年 4 月 30 日

[その他]

ホームページ:

<http://www.tmd.ac.jp/med/uro/>

受賞:

① Yoshida S, et al. Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diagnosis of upper urinary tract cancer. Prize for the Third Best Abstract (Oncology). Awarded by European Association of Urology, 2010 at 25th Anniversary EAU Congress, Barcelona, Spain, 16-20 April 2010.

② Yoshida S, et al. Best poster presentation award in Poster Session 2: Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in diagnosis of upper urinary tract cancer. Awarded by European Association of Urology, 2010.

③ Koga F, Kawakami S, Yoshida S, et al. Best poster presentation award in Poster Session 61: Treatment of advanced stage bladder cancer. Awarded by European Association of Urology, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉田 宗一郎 (YOSHIDA SOICHIRO)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80383280

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし