

令和 3 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18621

研究課題名(和文)尿路上皮癌における性ホルモン受容体シグナルと放射線感受性、DNA修復機構との関連

研究課題名(英文) Association of androgen receptor signal, radiosensitivity and DNA repair pathway in urothelial carcinoma

研究代表者

村上 哲史 (Murakami, Tetsushi)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：40813655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではヒト膀胱癌細胞株5637-ARを用いてアンドロゲン受容体阻害剤、放射線照射、DNA修復機構に関連するPARP阻害剤の併用療法の有効性について検討した。AR阻害剤単独とPARP阻害剤単独での放射線増強効果は得られたが併用では単剤と比べ殺細胞効果に有意差を認めなかった。その原因としてARシグナルとPARP-1との関連がPCR法で認められたため、AR阻害剤投与時にPARP-1の発現も低下させてしまうことが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PARP阻害剤は実臨床において卵巣癌、乳癌、前立腺癌、膵癌に適応があり、本研究ではPARP阻害剤の膀胱癌における有効性について検証した。

研究成果の概要(英文)：We examined the efficacy of combination therapy with anti-androgenic agent, radiotherapy and PARP inhibitor for bladder cancer cell line: 5637 with androgen receptor expression. 5637-AR cells revealed anti-androgenic agent and PARP inhibitor enhanced radiosensitivity. Combined administration of PARP inhibitor and anti-androgenic agent didn't showed higher anti-tumor effect than single agent.

研究分野：尿路上皮癌

キーワード：尿路上皮癌 PARP阻害剤 DNA修復機構 アンドロゲン受容体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

進行性尿路上皮癌に対する治療は白金製剤 (CDDP) をベースとした化学療法が中心であり、治療効果を認める 2nd line の薬剤は長らく存在していなかったが、近年 PD-L1(programmed death-ligand 1)に対する免疫チェックポイント阻害剤が難治性尿路上皮癌の 2nd line 治療として承認された。しかし、依然 PD-L1 阻害剤はその治療効果において限定的であり、満足行く治療成績が得られていない。

DNA は様々な要因により損傷を受け、損傷を受けた細胞は PARP-1(Poly ADP-ribose polymerase)による塩基切断修復を介した DNA1 本鎖損傷修復経路 (SSB) と BRCA-1/2(Breast cancer susceptibility gene)による相同組み換え (homologous recombination; HR)を介した DNA2 本鎖修復経路 (DSB) の 2 種類の正確な DNA 修復機構によりゲノム恒常性を維持している。BRCA1/2 変異陽性細胞では HR 経路が進まず遺伝子不安定性を生じ、DNA 損傷が蓄積され家族性乳がんや卵巣癌、前立腺癌等を引き起こす。近年、正常細胞で PARP-1 を阻害すると修復経路が HR や NHEJ 経路へ移行し DNA 修復は可能であるが、BRCA1/2 機能不全の状態では PARP 機能を特異的に阻害することで合成致死 (Synthetic Lethal) となりアポトーシスが誘導されることが証明され、乳癌や卵巣癌の領域で PARP 阻害剤が新たな分子標的薬治療として注目されることとなった。

膀胱癌における PARP 阻害剤の有用性に関しては解明されていないが、前立腺癌においてアンドロゲン受容体阻害剤誘導性の BRCAness と PARP 阻害は去勢抵抗性前立腺癌に対して合成致死を起こす報告 (Asim M et al, Nat Commun)、当教室におけるアンドロゲンレセプターは膀胱癌における放射線感受性を減少させ、アンドロゲン遮断療法は放射線照射後の DNA2 本鎖修復を遅延させた報告 (Ide H et al, Mol Cancer Ther)、前立腺癌症例におけるホルモン療法はアンドロゲンレセプター (AR) を発現する膀胱癌の再発を抑制する報告 (Izumi K et al, Oncotarget 2016) から、放射線治療・アンドロゲン遮断療法・PARP 阻害剤の併用が治療に結びつく可能性が示唆される。

PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome) は種々の癌において高頻度に DNA 変異が認められ、癌抑制遺伝子の代表格に位置づけられる。PTEN/PI3K シグナル経路は細胞増殖、アポトーシス、細胞遊走、幹細胞の自己複製・維持、ゲノムの安定性を抑制することにより癌化制御に必須のシグナル経路であることが解明されている。膀胱癌においても筋層非浸潤性膀胱癌に比べ進行癌において大幅に PTEN の発現が抑制されていることが既に知られている (H Tsuruta et al, Cancer Res, 2006)。PTEN の欠損は Rad51 の転写を抑制し DNA 修復異常を引き起こすため、進行性膀胱癌では BRCA1/2 が正常でも BRCA1/2 機能不全と類似の DNA 相同組み換え修復機能障害を引き起こし PARP-1 の阻害が Synthetic Lethal を誘導できる可能性が考えられる。このような修復機能障害による治療感受性は「BRCAness」と称され、いくつかの種類の乳がんに関連して認められる。膀胱癌の 14% に BRCA1、7% に BRCA2 の遺伝子変異を認めているが (Nickerson ML et al, Clin Cancer Res, 2014)、この BRCAness を薬剤により誘導することによって、PARP 阻害剤の使用を拡大できる可能性がある。以上より進行性膀胱癌において DNA 修復経路の関与が示唆され、同経路の機序の解明及び制御が新たな治療戦略を確立する上で重要である。

### 2. 研究の目的

他癌種において PARP 阻害剤単独投与及び PARP 阻害剤と各種抗癌剤との併用療法による抗腫瘍効果の相乗効果が報告されているが、膀胱癌での報告は極めて少ない。本研究では進行性尿路上皮癌における DNA 修復異常に注目し、同経路の分子機序を明らかにし、PARP-1 阻害剤治療の最適化を図ることで難治性尿路上皮癌に対し新規治療戦略を確立させたいと考えている。

### 3. 研究の方法

(1)膀胱癌細胞株 5637-AR、UMUC3、647V-AR における AR 発現の確認  
Western blot 法を用いて 5637-AR、UMUC3、647V-AR 膀胱癌細胞株に AR 発現があることを確認した。

(2)膀胱癌細胞株 5637-AR に対する PARP 阻害剤、AR 阻害剤、放射線照射による治療効果の検証  
5637-AR 膀胱癌細胞株を用いて、Control, Hydroxy flutamide (HF) 1 $\mu$ M 単独, Olaparib 1 $\mu$ M 単独、Hydroxy flutamide 1 $\mu$ M と Olaparib 1 $\mu$ M 併用群の 4 群に分け、放射線照射あり/なし群に分け 2Gy 照射した。放射線照射から 7 日後に WST assay を行った。

### 4. 研究成果

(1)WST assay 法を用いて 5637-AR 細胞株に対する殺細胞効果を評価した。AR 阻害剤単独と Olaparib 単独での放射線増強効果は得られたが併用では単剤と比べ殺細胞効果に有意差を認

めなかった(Figure 1)。その原因として AR シグナルと PARP-1 との関連が PCR 法で認められたため(Figure 2)、AR 阻害剤投与時に PARP-1 の発現も低下させてしまうことが考えられた。さらに PARP-1 以外のターゲットを探すために放射線抵抗株の樹立を目指している。

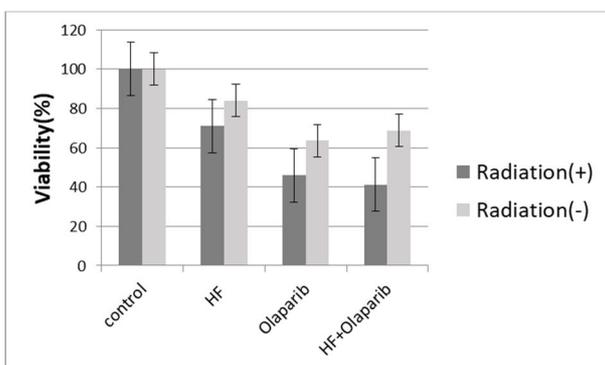


Figure 1 5637-AR WST assay

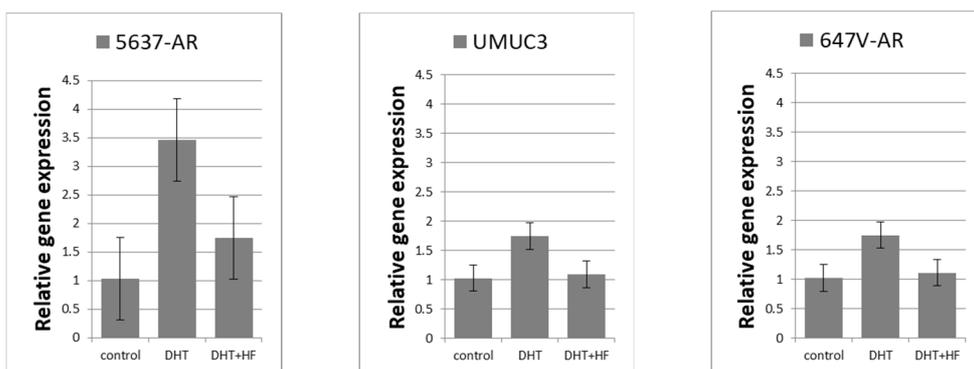


Figure 2 DHT(Dihydrotestosterone)、HF 投与による AR 陽性膀胱癌細胞の PARP-1 発現の変化

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------