

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791529

研究課題名(和文)

膀胱癌に対する TS - 1 単独及び r TS 遺伝子導入併用による抗腫瘍効果の増強

研究課題名(英文) The effect of TS -1 and enhanced chemosensitivity to TS -1 by rTS gene therapy in bladder cancer.

研究代表者

井手 広樹 (IDE HIROKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70365360

研究成果の概要(和文): 今回の実験において、DPD 高値の膀胱癌細胞株では、TS -1 が他の 5-FU 系経口抗癌剤に比べて、有意に高い抗腫瘍効果を認めた。また、TS 高値または DPD 高値である膀胱癌細胞株は 5-FU の感受性が低かった。更に、siRNA により TS および DPD 発現を down-regulation させた細胞において、5-FU の感受性が上昇したため、膀胱癌において、TS と DPD が 5-FU の感受性に強く関与していることが示唆された。

TS -1 に TS を down-regulation させる効果がある CPT -11 を併用することで、単剤より、有意な抗腫瘍効果の増強が認められ、CPT -11 と同様の効果を有する rTS 遺伝子導入との併用による効果が期待される。

研究成果の概要(英文): This experiments revealed that the treatment with TS -1 resulted in a significantly higher level of growth inhibition compared to that with other 5-FU based agent in bladder cancer cell lines with a higher level of DPD. Furthermore, our study showed that bladder cancer cells with higher TS or DPD have lower sensitivity of 5-FU and bladder cancer cells in which the levels of TS and DPD were down-regulated using siRNA had higher sensitivity of 5-FU. Thus, these results indicated that elevated TS and DPD levels were strongly associated with decreased sensitivity of 5-FU in bladder cancer.

The present study showed that the treatment of TS -1 in combination with CPT -11 that was able to down-regulate the level of TS resulted in a significantly higher level of growth inhibition compared to that with TS -1 alone or CPT -11 alone. Thus, from these results, the combination treatment of TS -1 in combination with rTS gene therapy in which the level of TS was able to be down-regulated might be a novel treatment against bladder cancer.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：膀胱癌、化学療法、遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

浸潤性膀胱癌の化学療法として、

methotrexate, vinblastin, adriamycin, cisplatin を用いた MVAC, gemcitabin,

paclitaxel を用いた GP、gemcitabine、cisplatin を用いた GC 等が存在し、一定の奏効率を認めるものの、その後、再発を認め長期の生存に寄与しない (Jonathan, E. R *et al.*: *J. Urol.*, 2005)。その原因として従来の regimen では、最大耐用量を用いるため、毒性が強度に発現し、一定の休薬期間が必要となるが、その間に腫瘍血管内皮細胞が増殖する事が一因として考えられている。近年、低用量の抗癌剤を休薬期間を設けず投与する metronomic chemotherapy が提唱されている (Kerbel RS *et al.*: *Science*, 2006)。

浸潤性膀胱癌に対し、現在 5-FU の経口抗癌剤として uracil と 5-FU のプロドラッグである tegafur の合剤である UFT が存在し、一定の奏効率 (32%) を認め、表在性膀胱癌の再発予防に対しても効果を認めている (Kubota Y *et al.*: *Oncology*, 2001)。さらに、5-FU 分解酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) 阻害活性が uracil の約 200 倍を有するギメラシルと tegafur、消化器毒性を抑制するオテラシルカリウムの合剤である TS-1 が近年導入された。大腸癌モデルにおいて抗腫瘍効果は UFT より有意に TS-1 が優れていると報告されており、(Shirasaka T *et al.*: *Jpn. J. Cancer Chemother.*, 2001) 現在、TS-1 は消化器癌、頭頸癌、非小細胞肺癌、乳癌に広く使用されている。膀胱癌に対しては現時点で TS-1 を用いた検討はなされていないが、その治療効果は metronomic chemotherapy を基盤として有用である可能性が示唆される。そこで、本研究では TS-1 に着目し、膀胱癌細胞に対する治療効果を検討したい。

2. 研究の目的

今回我々は、膀胱癌に対する TS-1 による抗腫瘍効果及び rTS 遺伝子導入との併用による抗腫瘍効果の増強に関して研究を行う。本研究ではまず、5-FU を取り巻く生体内の酵素と薬剤感受性との関連、および膀胱癌細胞に対する TS-1 単独の治療効果を検討したい。

更に、TS 高値の細胞が、5-FU 抵抗性であることが報告されているため、TS-1 を用いた metronomic chemotherapy に TS を down-regulation を惹き起こす治療を併用する事による抗腫瘍効果の増強が期待される。

その TS を down-regulation させる治療として、我々は前に述べた rTS gene に注目した。近年、TS の mRNA のアンチセンスをコードしている rTS gene の生成物である rTSb の過剰発現により TS の down-regulation が惹き起こされる事が、大腸癌細胞株において報告されている。

即ち我々は、さらに TS-1 に rTS 遺伝子治療を始めとした TS を down-regulation させる薬剤との併用療法における研究を行いたい。

3. 研究の方法

まず、各膀胱癌細胞株の TS および DPD 値を ELISA および real-time PCR にて測定する。更に各膀胱癌細胞株の 5-FU の感受性を測定し、TS、DPD 値との関連を検討する。更に、siRNA を用いて、その関連を確認する。

その後、in vitro, in vivo における TS-1 の抗腫瘍効果を他の 5-FU 系抗癌剤と比較検討する。

更に TS を down-regulation させる薬剤の解明のために、in vitro にてヒト膀胱癌細胞株に、各種抗癌剤を投与して、24, 48, 72 時間後に mRNA を抽出し、TS 値を real-time PCR にて測定する。

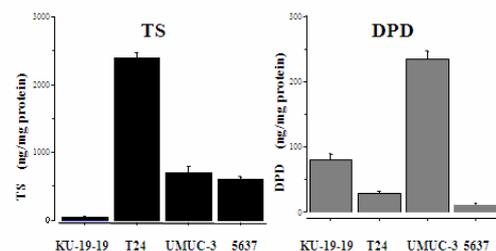
そして、TS を down-regulation させた薬剤と TS-1 との併用療法と TS-1 単独療法との抗腫瘍効果の比較を in vitro, in vivo にて行う。更に、TS を siRNA にて down-regulation させた細胞に、単剤と併用療法の抗腫瘍効果を測定し、併用療法の抗腫瘍効果の増強に TS が関与しているのか検討を行う。

また、ヒト膀胱癌細胞株に rTS gene の導入を試みた。

4. 研究成果

(1) 各膀胱癌細胞株における TS、DPD 値の測定

ヒト膀胱癌細胞株 (KU-19-19, T24, UMUC-3, 5637) の TS、DPD 値を ELISA および real-time PCR にて測定した。TS は、T24 が最高値であり、DPD は UMUC-3 が最高値であった。



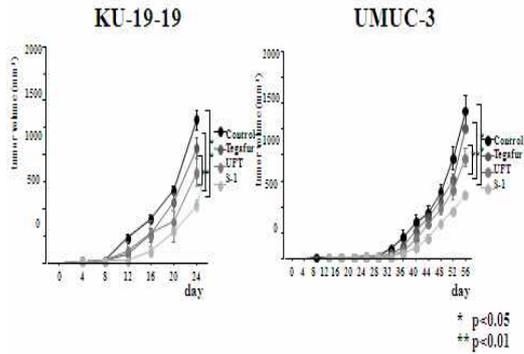
(2) TS、DPD 値と 5-FU 感受性との関連

In vitro にて、各濃度別の 5-FU による殺細胞効果を測定したところ、TS 最高値である T24 および DPD 最高値である UMUC-3 の感受性が有意に低かった。

更に、TS、DPD 値を siRNA を用いて down-regulation させた細胞で 5-FU の殺細胞効果を調べたところ、down-regulation させる前の細胞に比べて、感受性が有意に高くなった。

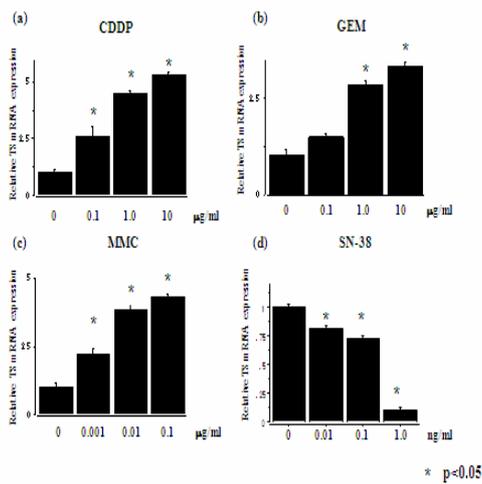
(3) TS-1 の抗腫瘍効果

DPD 高値である UMUC-3 および KU-19-19 において、in vitro、in vivo ともに他の 5-FU 系抗癌剤に比べ、TS-1 の抗腫瘍効果が有意に高かった。



(4) 各薬剤投与後の TS 値の変動

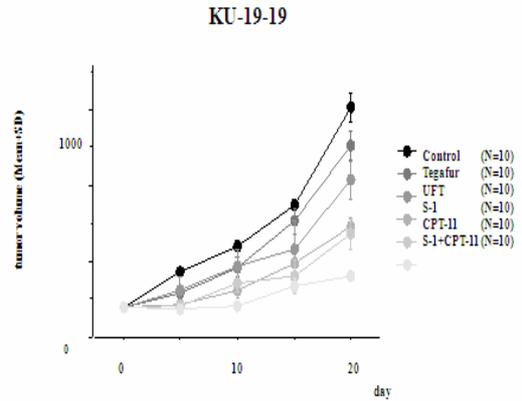
Gemcitabine、adryamicin、cisplatin など臨床的に使用される抗癌剤を各濃度別に投与したが、CPT-11 (SN-38) のみがヒト膀胱癌細胞株の TS を濃度依存的に down-regulation させた。



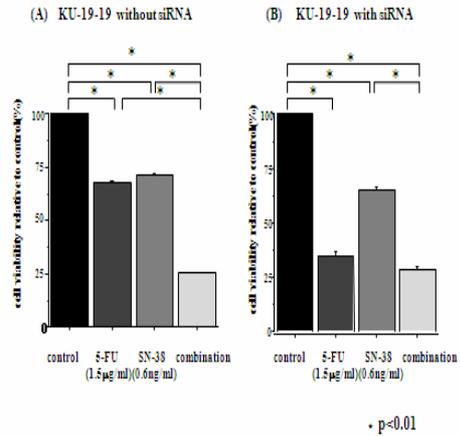
(5) TS-1 と CPT-11 併用療法における抗腫瘍効果

In vitro、in vivo にて、KU-19-19 における TS-1 と CPT-11 の併用療法と TS-1、CPT-11

単剤との抗腫瘍効果の比較を行ったところ、併用療法において有意な抗腫瘍効果の増強を認めた。



更に、TS を siRNA にて down-regulation させた細胞で単剤と併用療法の抗腫瘍効果の比較を行ったところ、有意な差は認められなかったため、併用療法における抗腫瘍効果の増強に関し、TS の down-regulation が関与していることが示唆された。



(6) rTS gene の導入

各細胞株に rTS gene の導入を試みたが、現在のところ、前立腺癌の細胞株にしか導入できなかった。

今回の実験において、ヒト膀胱癌細胞において、TS を down-regulation させる事によって、TS-1 の抗腫瘍効果をさらに増強させることができる事が示唆された。

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0件)

[学会発表](計3件)

Hiroki Ide, Eiji Kikuchi, Yota Yasumizu, Seiya Hattori, Masanori Hasegawa, Akira Miyajima and Mototsugu Oya. Novel therapeutic modality of S-1 in combination with CPT-11 to overcome 5-fluorouracil resistance in bladder cancer. The 106th annual meeting of American Urological Association.

2010/5/31. San Francisco, USA.

井手広樹、菊地栄次、服部盛也、安水洋太、長谷川政徳、宮嶋 哲、大家基嗣. 膀胱腫瘍に対する S-1・CPT-11 併用による殺細胞効果の検討.

第98回日本泌尿器科学会総会.

2010/4/27.盛岡.

Hiroki Ide, Eiji Kikuchi, Yota Yasumizu, Seiya Hattori, Masanori Hasegawa, Akira Miyajima, Mototsugu Oya. The combination treatment of S-1 with CPT-11 in bladder cancer. 第68

回癌学会総会. 2009/10/2.横浜.

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

井手 広樹 (IDE HIROKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号: 70365360

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし