

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 15 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791495

研究課題名（和文） 膀胱癌における抗癌剤投与に伴う血管新生亢進の機序の解明

研究課題名（英文） The molecular mechanisms of angiogenic aggressiveness after chemotherapeutic agents in bladder cancer.

研究代表者

田中 伸之 (TANAKA NOBUYUKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：60445244

研究成果の概要（和文）：膀胱癌における抗癌剤投与（CDDP）が Angiotensin II type 1 receptor の発現上昇及び Angiotensin II 依存性の血管新生亢進を誘導する機序として、抗癌剤投与に伴う活性酸素上昇の関与を解明した。また独自に CDDP 耐性株を樹立し CDDP 耐性下での Angiotensin II 依存性の血管新生亢進の可能性も解明した。

研究成果の概要（英文）：We elucidated the molecular mechanisms of upregulating angiotensin II type 1 receptor and angiotensin II-dependent angiogenesis after CDDP treatments in bladder cancer. We further elucidated the upregulation of angiogenic aggressiveness thorough angiotensin II pathway in acquired platinum-resistant bladder cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

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：血管新生・シスプラチン・活性酸素

1. 研究開始当初の背景

これまで当教室では、Angiotensin II (Ang II) Type I 受容体(AT1R)が血管新生と関与する所見より、泌尿器科癌における AT1R の発現や Ang II-AT1R シグナルの解明を行ってきた。また膀胱癌マウス皮下腫瘍モデルにおいて Ang II receptor blocker (ARB)と抗癌

剤(CDDP)の併用療法について検討を行い、CDDP 存在下での血管新生阻害を介した ARB の著明な抗腫瘍効果の増強を報告した。CDDP を中心とする抗癌剤投与に伴う VEGF の発現亢進が以前より報告されており、本併用療法の著明な抗腫瘍効果の相互作用として CDDP 投与に伴う AT1R-VEGF 発現誘導の可能性を考えた。

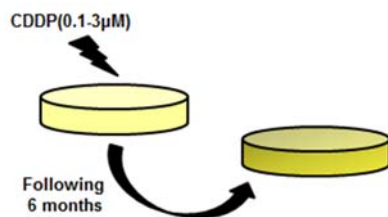
2. 研究の目的

浸潤性膀胱癌に関しては有効な化学療法のレジメンが無く、依然 CDDP を中心とした治療が第一選択である。ARB は既に降圧療法として投与されている薬剤なので臨床応用が容易である。本検討により、その有用性が確認されれば非常に有効な治療レジメンとなりうる。

3. 研究の方法

2010年：膀胱癌細胞株を用いた In vitro における CDDP・ARB 併用療法による抗腫瘍効果及び ELISA 法を用いた CDDP による VEGF の発現上昇と ARB による抑制効果の検討を行った。AT1R の発現変化の検討にはイムノブロット法を用いた。次に皮下腫瘍モデルへの CDDP 投与と腫瘍細胞における AT1R の発現変化についての検討を行い、また術前化学療法を行い、その後膀胱全摘術を施行した膀胱癌臨床検体を用いて化学療法後の AT1R 発現変化の検討を行った。

2011年：ヒト膀胱癌細胞株 5637、T24 に In vitro で CDDP を持続的に暴露し(6カ月間)、CDDP 耐性株の樹立を行い、同様の方法を用いて CDDP 耐性下での AT1R 発現変化及び ARB の抗腫瘍効果の検討を行った。



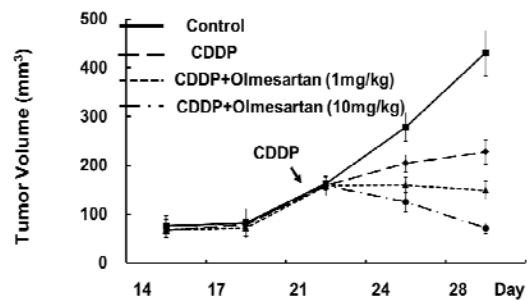
4. 研究成果

2010年：ヒト浸潤性膀胱癌細胞株癌 T24 を用い CDDP の投与後の AT1R の発現量の変化を確認したところ、CDDP 投与群では約 2 倍の上昇

を認めた。ELISA において AT1R 発現と相関して Ang II 依存性の VEGF 上昇が認められた。次に CDDP 投与に伴う活性酸素上昇を Free radical scavenger にて抑制し AT1R 発現の変化を検討したところ、CDDP 投与に伴う AT1R 上昇は Free radical scavenger 投与により有意に抑制された。以上より化学療法が必要である浸潤性膀胱癌患者において CDDP と ARB の併用を行うことは更なる治療的効果の得られる可能性が示唆され、その相互作用のメカニズムとして CDDP 投与に伴う活性酸素上昇が Ang II 依存性の血管新生亢進に関与していると思われる。

また CDDP・ARB 併用療法の In vivo における抗腫瘍効果の増強は T24 細胞を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいても、その有効性が確認され (Figure 1、2)、臨床検体を用いた免疫組織学的評価においても、化学療法施行後の摘出組織において AT1R 及び VEGF 発現上昇が認められた。

Figure 1



2011年：ヒト膀胱癌細胞株 T24・5637 の 2 種を用い、独自に CDDP 耐性株 T24PR・5637PR (Platinum Resistance) を樹立し、CDDP 耐性獲得後の AT1R の発現や ARB の治療的有用性を検討したところ、CDDP 抵抗性獲得過程における AT1R 発現上昇を介した Ang II 依存性の血管新生亢進が認められた。その作用機序として、CDDP 耐性下の膀胱癌においては内在性活性酸素の上昇が考えられ、CDDP 抵抗下

での ARB を用いた Ang II-AT1R シグナルの制御の重要性が示唆された。CDDP 耐性下における ARB の治療効果は、T24PR 細胞を用いたマウス皮下腫瘍モデルにおいても、その有効性が確認された (Figure 2、3)。

Figure 2

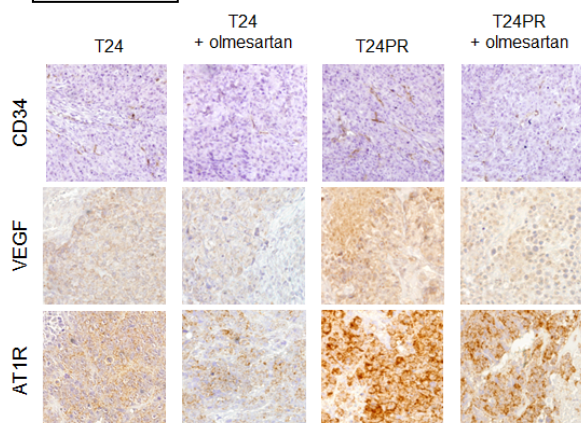
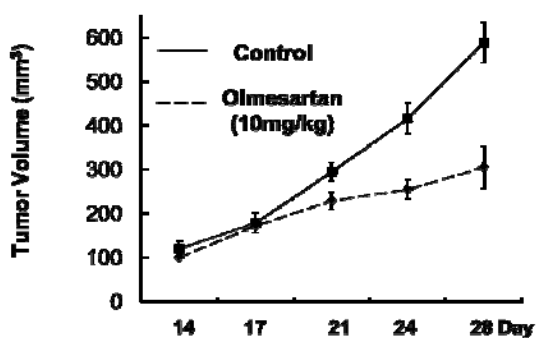


Figure 3



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. Tanaka N, Miyajima A, Kikuchi E, Matsumoto K, Hagiwara M, Ide H, Kosaka T, Masuda T, Nakamura S, Oya M: PROGNOSTIC IMPACT OF RENIN-ANGIOTENSIN SYSTEM BLOCKADE IN LOCALIZED UPPER TRACT UROTHELIAL

CARCINOMA.

Br J Cancer 2012; 106: 290-6 査読有

2. Tanaka N, Kikuchi E, Matsumoto K, Hayakawa N, Ide H, Miyajima A, Nakamura S, Oya M: Prognostic Value of Plasma Fibrinogen Levels in Patients with Localized Upper Tract Urothelial Carcinoma

Br J Urol Int in press 2012 ; 査読有

3. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T, Miyazaki Y, Kikuchi E, Oya M: Acquired Platinum Resistance Enhances Tumor Angiogenesis through Angiotensin II Type 1 Receptor in Bladder Cancer.

Br J Cancer 2011; 105: 1331-7 査読有

4. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T, Shirotake S, Hasegawa M, Kikuchi E, Oya M: Cis-dichlorodiammineplatinum upregulates angiotensin II type 1 receptors through reactive oxygen species generation and enhances VEGF production in bladder cancer.

Mol Cancer Ther 2010; 9: 2982-92 査読有

[学会発表] (計 3 件)

1. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T, et al. Acquired Platinum Resistance Induces Angiogenic Aggressiveness Through Upregulation of Angiotensin II Type 1 Receptors in Bladder Cancer. 2012 年米国泌尿器科学会、米国、2012/5/21

2. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T, et al. Reactive Oxygen Species Generation Increased by Cis-dichlorodiammineplatinum Enhances VEGF Production through Upregulating Angiotensin II Type 1 Receptor in Bladder Cancer. 2011 年米国泌尿器科学会、米国、2011/5/16
3. Tanaka N, Miyajima A, Kosaka T. Cis-dichlorodiammineplatinum up-regulates angiotensin II type 1 receptor, and enhances vascular endothelial growth factor production in bladder cancer. 2010 年米国泌尿器科学会、米国、2010/5/30

[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

<http://www.keio-urology.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 伸之 (TANAKA NOBUYUKI)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：60445244