

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 24 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462487

研究課題名(和文)膀胱癌における4N1K-peptideの臨床病理学的意義と進展抑制効果の研究

研究課題名(英文) Investigation on clinicopathological significance and tumor suppressive effects of 4N1K-peptide in bladder cancer

研究代表者

宮田 康好 (MIYATA, Yasuyoshi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：60380888

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：まず4N1k-peptideを含むTSP-1やTSP-2の生理学的・病理学的特徴や予後との関連を総説として発表した。さらに、癌組織における血管新生の評価方法に注目し、上部尿路癌では、CD31やCD34を用いたmicrovessel density (MVD)よりもCD105で評価したMVDの方が、より病理学的特徴や予後を反映し、同様の結果は前立腺癌組織でも認められることを報告した。次に、癌細胞間質に注目した検討を行ない、TWIST、hemeoxygenase (HO)-1、human antigen-R (HuR) の泌尿器癌における病理学的役割を報告し、本研究の遂行に有用な情報を得た。

研究成果の概要(英文)：4N1K-peptide is well-known as a fragment of thrombospondin (TSP)-1 and -2. We reviewed biological significance and pathological role of such TSP family. Furthermore, we found that microvessel density (MVD) measured by anti-CD105 (CD105-MVD) was more useful compared to CD31-MVD or CD34-MVD in urothelial cancer of upper urinary tract. In addition, similar finding was detected in human prostate cancer. Next, we investigated relationship between malignant potential and cancer stromal tissues in human urological cancer tissues because stromal expression of 4N1K-peptide often play important roles in several malignancies. In this grant, we showed pathological significance and prognostic roles of TWIST, hemeoxygenase (HO)-1, and human antigen R (HuR) in urological cancers. In the present, we have been investigated that pathological significance of 4N1K-peptide, TSP-1, and TSP-2 in patients with bladder cancer.

研究分野：Urology

キーワード：4N1K-peptide Thrombospondins Angiogenesis TWIST Hemeoxygenase-1 Human antigen R

1. 研究開始当初の背景

(1) 膀胱癌患者の quality of life (QOL) や生命予後を決定する要因として「浸潤・転移」が挙げられ、その成立には様々な要因が複雑に関与している。そのなかで「細胞増殖」、「浸潤」、「血管新生」などが代表的な因子として挙げられ、世界的にも広く研究が行なわれていた。

(2) 泌尿器癌における予後予測因子や治療標的として血管新生に関連する様々な分子やシグナル伝達物質に注目し研究していたが、代表的な内因性の血管新生阻害分子である thrombospondin (TSP)-1 に注目した。

(3) TSP-1 は、血管内皮細胞の増殖や遊走を抑制、アポトーシスを促進するため「血管新生抑制因子」とされてきたが、血管新生促進も含めた multi-functional な蛋白だとわかってきた。

2. 研究の目的

4N1K-peptide を用いた膀胱癌の予後予測モデル確立と、新たな発癌抑制や治療戦略構築を目指し、以下を明らかにする。

(1) 4N1K-peptide の膀胱癌細胞/癌組織での病理学的役割と癌進展や予後との関連。

(2) TSP-1 同様に 4N1K-peptide を含む TSP-2 が、膀胱癌で果たす病理学的意義。

(3) 4N1K-peptide 生成について、TSP-1 および TSP-2 が各々関与する割合と制御機序。

(4) 4N1K-peptide の予後予測因子としての有用性、生体内での発癌抑制・抗腫瘍効果。

3. 研究の方法

4N1K-peptide および TSP-1、-2 に関して、生物学的・病理学的役割を網羅的かつ統合的に検討を進めることで、新たな膀胱癌の予後予測モデルの確立と治療戦略の構築を目指す。

(1) 4N1K-peptide および TSPs の癌種における役割を網羅的に理解するための情報収集を行ない、知識の理解を深める。

(2) TSP-1、-2 の病理学的意義を、膀胱癌 cell lines での発現の検討に加えて、si-, sh-RNA を用い発現を制御し解析する。

(3) 4N1K-peptide の臨床病理学的意義や予後への影響を、cell lines や化学発癌動物モデル、臨床検体と網羅的に検討を進める。

(4) TSP-1 と TSP-2 や各種の浸潤・転移関連因子も含めた総合的な検討を行うことで、4N1K-peptide を用いた新たな再発予防、治療戦略構築への現実性の高い「足懸かり」を得る。

4. 研究成果

(1) 4N1K-peptide は、TSP-1 由来のフラグメントとして知られており、その視点からの検討がほとんどである。一方、4N1K-peptide は TSP-2 にも存在するフラグメントにも関わらず、その点を踏まえた議論はほとんどない。そこで、本研究を開始するにあたり、上記も含めた TSP family の生理学的・病理学的特徴や予後との関連を総説として発表し、今後の我々の研究を他の研究者と議論する上で有用な情報を提供した。

(2) 癌組織における血管新生に議論では、その血管新生の(半)定量法が問題となる。つまり、一般的に血管内皮細胞を認識する抗体を用い、染色された vessel の密度や内腔径を評価するが、用いられる抗体は、各研究者の選択に委ねられている。そこで、本研究でより臨床的に有用の高い結果を得るため、膀胱癌に限らず各種泌尿器癌組織で検討し以下の結果を得た。

上部尿路癌組織では、CD31 や CD34 を用いて測定された microvessel density (MVD) よりも CD105 による MVD の方が、より病理学的特徴や予後を反映していた。

前立腺癌組織における検討でも、上部尿路癌と同様に CD105 により半定量化した MVD が、最も病勢や転機を正確に反映していた。

(3) 4N1K-peptide を含む TSP family は、癌細胞に加えて細胞間質でも発現し、細胞間質を構成する細胞の動態に影響を与えることが知られている。そこで、膀胱癌を含めた泌尿器癌組織において癌細胞-癌細胞間質の相互作用に注目した検討を行なった結果・・・

腎癌組織における TWIST の発現が、病期や悪性度と正の関連を認め、さらには、予後とも関連することを明らかにし、治療標的としての有用性を見いだした。

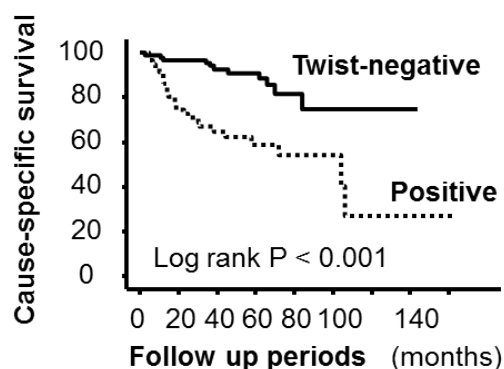


図 腎癌患者での TWIST 発現と癌特異生存率

膀胱癌組織における Hemeoxygenase (HO)-1 の発現が、病理検査所見と有意に関連することを見だし、さらに、癌関連分子である vascular endothelial growth factors、cyclooxygenase-2、matrix metalloproteinases の発現とも関連することも明らかにした。さらに、HO-1 の発現が喫煙状況に影響を受けること、予後予測因子であることを報告した。

で示した研究の過程で、喫煙と癌関連分子との関連に注目した。そこで、同じ尿路癌(移行上皮癌)である上部尿路癌でも同様の検討を行なった。その結果、膀胱癌で見られた結果と同様の結果であったが、上部尿路癌では、特に、cyclooxygenase-2、matrix metalloproteinase-9 の発現とリンパ管新生に影響を与えていた。

(4) 今回の 4N1K-peptide や thrombospondins を含む血管新生制御システムを解析する過程で見いだされた関連分子の制御因子が human antigen-R であった。そこで、その機能や意義を in vivo、in vitro で検討したところ・・・

Human antigen-R は、膀胱癌組織において、前述した血管新生関連分子の発現と有意に関連し、その結果、悪性度や予後と関係する重要な因子であることがわかった。

Human antigen-R が、膀胱癌患者に対して使用する代表的抗がん剤のゲムシタピンの代謝と関連することに注目し、その抗腫瘍効果との関係を解析した。すると、その発現がゲムシタピンを含む抗がん剤で治療を受けた患者の予後の予測因子であることがわかった。

このように、4N1K-peptide を中心とした血管新生と、それに関連した癌細胞の進展や膀胱癌患者の予後について、網羅的な解析結果を得た。現在、それらと 4N1K-peptide および thrombospondins の関連について、最終的な解析と考察を行なっている。

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 12 件)

Miyata Y, Sagara Y, Watanabe S, Asai A, Matsuo T, Ohba K, Hayashi T, Sakai H. CD105 is a more appropriate marker for evaluating angiogenesis in urothelial cancer of the upper urinary tract than CD31 or CD34. *Virchows Arch* 2013; 463: 673-679. DOI: 10.1007/s00428-013-1463-8. 査読あり

Miyata Y, Sakai H. Thrombospondin-1 in urological cancer: pathological role, clinical significance, and therapeutic prospects. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 12249 - 12272, 2013. DOI: 10.3390/ijms140612249. 査読あり

Ohba K, Miyata Y, Matsuo T, Asai A, Mitsunari K, Shida Y, Kanda S, Sakai H. High expression of Twist is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with renal cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 3158-3165. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25031735>. 査読あり

Miyata Y, Kanda S, Mitsunari K, Asai A, Sakai H. Heme oxygenase-1 expression is associated with tumor aggressiveness and outcomes in patients with bladder cancer: a correlation with smoking intensity. *Transl Res* 2014; 164: 468 - 476. DOI: 10.1016/j.trsl.2014.06.010. 査読あり

Miyata Y, Asai A, Mitsunari K, Matsuo T, Ohba K, Mochizuki Y, Sakai H. Met in Urological Cancers. *Cancers (Basel)* 2014; 6: 2387 - 2403. DOI; 10.3390/cancers6042387. 査読あり

Miyata Y, Mitsunari K, Asai A, Watanabe S-I, Mochizuki Y, Sakai H. Smoking-induced changes in cancer-related factors in patients with upper tract urothelial cancer. *Mol Clin Oncol* 2015; 3: 287-294. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25798255>. 査読あり

Miyata Y, Sakai H. Reconsideration of the clinical and histopathological significance of angiogenesis in prostate cancer: Usefulness and limitations of microvessel density measurement. *Int J Urol* 2015; 22: 806 - 815. DOI: 10.1111/iju.12840.

Miyata Y, Sakai H. Predictive Markers for the Recurrence of Nonmuscle Invasive Bladder Cancer Treated with Intravesical Therapy. *Dis Markers* 2015; 2015: 857416 DOI: 10.1155/2015/857416. 査読あり

Miyata Y, Mitsunari K, Asai A, Takehara K, Mochizuki Y, Sakai H. Pathological

significance and prognostic role of microvessel density, evaluated using CD31, CD34, and CD105 in prostate cancer patients after radical prostatectomy with neoadjuvant therapy. *Prostate* 2015; 75: 84-91. DOI: 10.1002/pros.22894. 査読有り

Miyata Y, Mitsunari K, Asai A, Watanabe S, Matsuo T, Ohba K, Sakai H. Human antigen R as a predictive marker for response to gemcitabine-based chemotherapy in advanced cisplatin-resistant urothelial cancer. *Oncol Lett*, in press. 査読有り

Matsuo T, Miyata Y, Mitsunari K, Asai A, Yasuda T, Sakai H. Prognostic role of heme oxygenase-1 expression in non-muscle invasive bladder cancer: correlation to cell proliferation, lymphangiogenesis, and cyclooxygenase-2. *Oncol Lett*, in press. 査読有り

Mitsunari K, Miyata Y, Asai A, Matsuo T, Shida Y, Hakariya T, Sakai H. Human antigen R is positively associated with malignant aggressiveness via upregulation of cell proliferation, migration, and vascular endothelial growth factors and cyclooxygenase-2 in prostate cancer. *Transl Res*. 2016 pii: S1931-5244(16)30020-2. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.04.002. 査読有り

[学会発表] (計 9 件)

前立腺癌組織における 4N1K-peptide の発現と臨床病理学的特徴の関連。浅井 昭宏, 宮田 康好, 光成 健輔, 松尾 朋博, 大庭 康司郎, 酒井 英樹。102回日本泌尿器科学会総会(2014年4月25日、神戸国際会議場、兵庫県、神戸市)。

Heme oxygenase-1 expression is associated with tumor aggressiveness in bladder cancer: Correlation with smoking. 宮田 康好, 酒井 英樹。72回日本癌学会総会(2013年10

月5日、パシフィック横浜、神奈川県、横浜市)。

Differences among cancer-related factors by smoking status in patients with urothelial cancer of the upper urinary tract: Their impact on metastasis after radical nephroureterectomy. Yasuyoshi Miyata, Katsura Kakoki, Akihiro Asai, Kensuke Mitsunari, Tomohiro Matsuo, Kojiro Ohba, Hideki Sakai. American Urological Association Annual Meeting 2013 (サンディエゴ、アメリカ)。

High expression of heme oxygenase-1 is associated with tumor progression and poor clinical outcome in non-muscle invasive bladder cancer patients. Tomohiro Matsuo*, Yasuyoshi Miyata, Akihiro Asai, Kensuke Mitsunari, Kojiro Ohba, Hideki Sakai. American Urological Association Annual Meeting 2013 (サンディエゴ、アメリカ)。

Yasuyoshi Miyata, Tomohiro Matsuo, Kojiro Ohba, Hideki Sakai. Positive expression of cytoplasmic HuR can predict long survival of urothelial cancer patients treated with second line gemcitabine-based chemotherapy. 30th. annual meeting of European Association of Urology (マドリッド、スペイン)。

上部尿路癌患者における癌関連因子に喫煙が与える影響の検討。浅井 昭宏, 宮田康好, 酒井 英樹, 103 回日本泌尿器科学会総会(2015年4月19日、ホテル日航金沢、石川県、金沢市)。

尿路癌患者における化学療法の効果予測因子としての Human antigen R(HuR)発現の有用性に関する検討。宮田 康好, 浅井 昭宏, 光成 健輔, 松尾 朋博, 大庭 康司郎, 酒井 英樹, 103 回日本泌尿器科学会総会(2015年4月19日、ホテル日航金沢、石川県、金沢市)。

Akihiro Asai, Yasuyoshi Miyata, Kensuke Mitsunari, Tomohiro Matsuo, Kojiro ohba, Hideki Sakai. Relationships between c-Fes expression and malignant aggressiveness in

bladder cancer in vivo and in vitro. American Urological Association annual meeting 2015 (ニューオーリンズ、アメリカ)。

Kensuke Mitsunari, Yasuyoshi Miyata, Akihiro Asai, Tomohiro Matsuo, Kojiro ohba, Hideki Sakai. Relationships between c-Fes expression and malignant aggressiveness in bladder cancer in vivo and in vitro. American Urological Association annual meeting 2015 (ニューオーリンズ、アメリカ)。

[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:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等: 計 0 件

6. 研究組織

(1)研究代表者

宮田 康好(MIYATA, Yasuyoshi)
長崎大学 医歯薬学総合研究科(医学系)・
准教授
研究者番号:60380888

(2)研究分担者

酒井 英樹 (SAKAI Hideki)
長崎大学 医歯薬学総合研究科(医学系)・
教授
研究者番号:40235122

望月 保志
長崎大学 病院(医学系)・講師
研究者番号:40404256