

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11150

研究課題名(和文)膀胱癌における抗アンドロゲン療法の作用メカニズムの解明

研究課題名(英文)Molecular mechanisms of androgen receptor signals in bladder cancer

研究代表者

泉 浩司 (Izumi, Koji)

横浜市立大学・医学研究科・客員講師

研究者番号：00721531

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：同一患者で抗アンドロゲン療法前後に再発した膀胱腫瘍の手術検体からRNAを抽出し、Transcriptomeを解析、転写因子であるARの標的分子を網羅的に探索した。その中でRRN3、GDPD3、ZNF737、ZNF626といった遺伝子がADT後に発現が低下していることを同定した。これらの遺伝子の発現を免疫染色により同じ手術検体における発現を解析したが、明らかな傾向は認められなかった。AR陽性の膀胱癌細胞株であるUMUC3においてARシグナルによってZNF737のmRNA、タンパクの発現が増加していた。しかし、その他の細胞株では明らかな傾向はみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膀胱癌は経尿道的腫瘍切除後、約半数が再発する。再発を繰り返すうちに約10%が筋層浸潤をきたし、予後不良な転帰をとるため、術後の再発を抑制することが非常に重要である。膀胱癌は男性に3-4倍多く発生し、その原因としてアンドロゲンレセプターシグナルの関与が報告されている。前立腺癌における抗アンドロゲン療法が膀胱癌の再発を抑制するという後ろ向き研究結果もあるが、その詳しいメカニズムの詳細は不明である。このメカニズムの解明がなされれば、新たな膀胱癌の治療戦略につながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We performed transcriptome assay by using four pairs of TURBT samples from the patients before and after androgen deprivation therapy for concomitant prostate cancer. In this assay, we found that RRN3, GDPD3, ZNF737/626 gene expression were lower in BT during ADT. However, in immunohistochemical study, we failed to show the down regulation of these gene expression in protein level. Next we assessed whether AR signals upregulate these gene expression in mRNA and protein level. In UMUC, AR positive urothelial cancer cell line, AR signals up regulated ZNF737 expression both in mRNA and protein level. However, in other cell lines, we failed to show the same phenomenon.

研究分野：膀胱癌

キーワード：膀胱癌 アンドロゲン アンドロゲンレセプター 抗アンドロゲン療法

## 1. 研究開始当初の背景

未治療膀胱癌の 80% は筋層非浸潤性膀胱癌であり、経尿道的手術が行われる。しかし、約半数に再発を認め、経過とともに約 10% が筋層へ進展することが知られており、これらを可能な限り抑制することが重要課題である。

## 2. 研究の目的

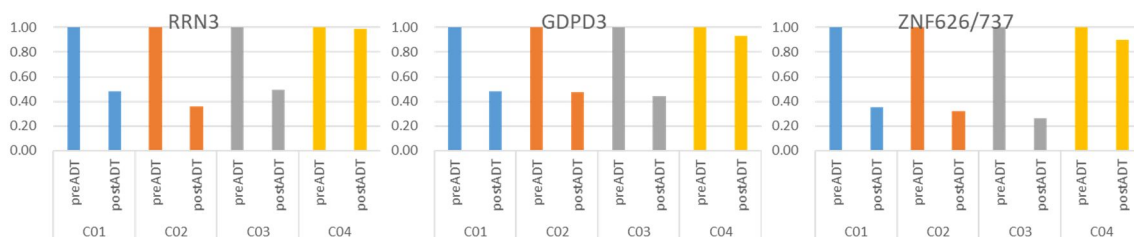
膀胱癌は男性に 3-4 倍多く発生し、基礎研究でアンドロゲンレセプター (AR) シグナルの関与が報告されてきた。我々は前立腺癌に対する抗アンドロゲン療法 (ADT) が膀胱癌の再発を抑制することを世界で初めて報告 (Oncotarget. 2014 Dec 30;5(24):12665-74.) した。臨床的にも我々の報告につづき、膀胱癌の発生、再発についての後ろ向き研究で抗アンドロゲン療法の有効性が複数報告されている。一方、膀胱癌における AR シグナルの作用メカニズムについては解明されていない。本研究では膀胱癌における AR シグナルの作用メカニズムの解明を目指し、膀胱癌治療における新たな治療標的の探索を目指す。

## 3. 研究の方法

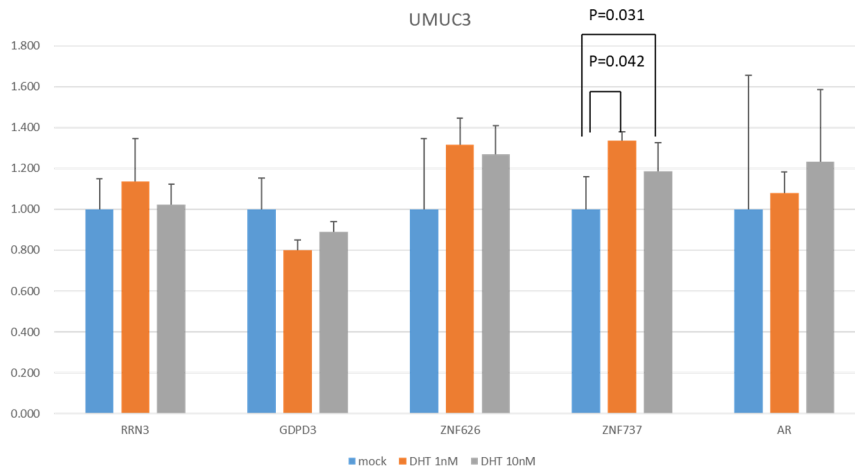
初めに、膀胱癌と前立腺癌の合併患者で、前立腺癌に対する ADT を行う前と、開始後に膀胱癌を認め、経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TURBT) を行った患者 4 名を抽出した。各々 ADT 前後の切除検体を用いて、遺伝子発現解析 (Affymetrix® GeneChip®) を行った。ADT 前後で変動のあった遺伝子を抽出し、In vitro の実験で膀胱癌における AR シグナルのターゲット遺伝子を検索する。

## 4. 研究成果

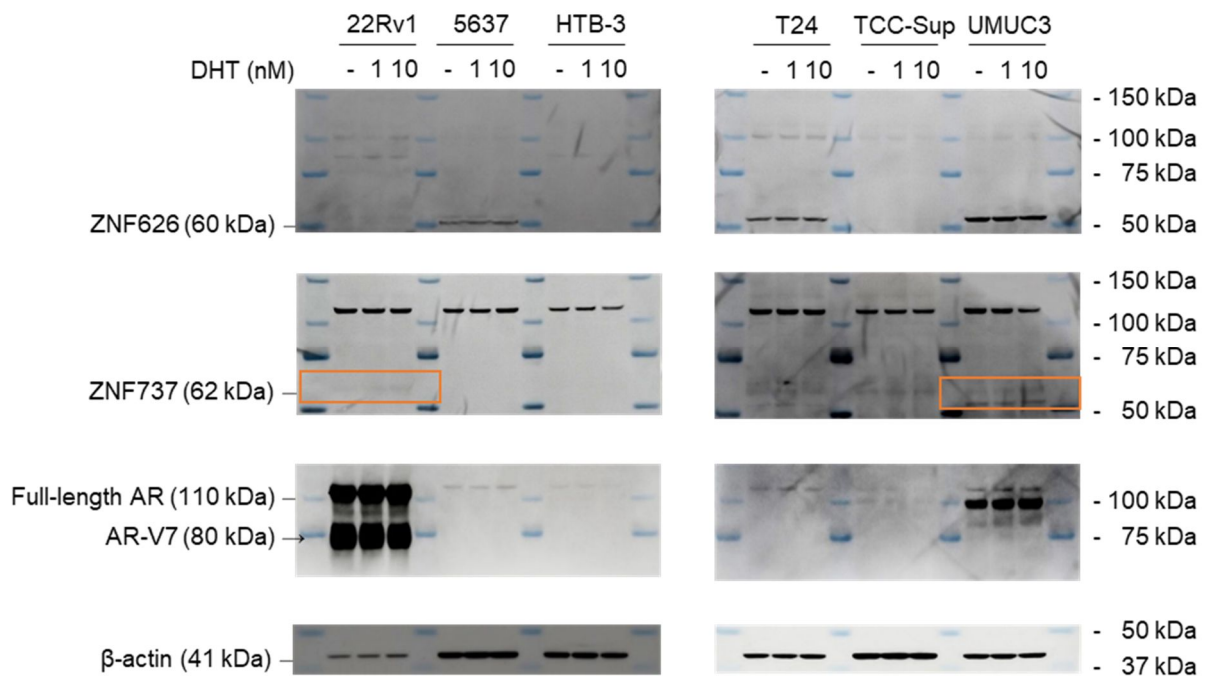
本研究ではまず、膀胱癌における AR の作用メカニズムの解明を目指し、同一患者で抗アンドロゲン療法前後に再発した膀胱腫瘍の手術検体から RNA を抽出し、マイクロアレイにより Transcriptome を解析、転写因子である AR の標的分子を網羅的に探索した。その中で RRN3、GDPD3、ZNF737、ZNF626 といった遺伝子が ADT 後に発現が低下していることを同定した。



これらの遺伝子の発現を免疫染色により同じ手術検体における発現を解析したが、明らかな傾向は認められなかった。続いて、膀胱癌細胞株を用いて AR シグナルによるこれらの遺伝子の変動を PCR、Western blot を用いて確認した。AR 陽性の UMUC3 において AR シグナルによって ZNF737 の mRNA 発現が有意に増加していた。



また、Western blot によっても同様に UMUC3 で ZNF737 のタンパク発現が容量依存性に増加する傾向が見られた。



しかし、その他の細胞株では一定の傾向はみられなかった。機能解析はその後ターゲットを絞り切れなかったために中止となった。

並行して TURBT 検体を用いて膀胱における AR の発現局在の探索と、AR の mRNA レベルでの発現と膀胱癌再発との関係について調べた。

膀胱における AR の発現は発生学的に膀胱三角部の AR 高発現が予測されたが、実際には他部位と有意差は認めなかった。(Int J Urol. 2019 Feb;26(2):305-306.)

さらに、膀胱癌における AR の RNA レベルでの発現と再発の関係を解析したところ、AR の発現は無再発生存率に関与していた (BMC Cancer. 2019 Apr 8;19(1):331)。

以上より、膀胱では部位に関係なく AR が広く発現しており、膀胱癌においては AR の発現は予後良好因子である一方、AR 陽性の膀胱癌においては AR シグナルの抑制が膀胱癌の再発に関与することが示唆された。膀胱癌における AR の作用メカニズムの詳細はさらなる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yasui Masato, Kawahara Takashi, Izumi Koji, Yao Masahiro, Ishiguro Yukari, Ishiguro Hitoshi, Uemura Hiroji, Miyoshi Yasuhide	4. 巻 19
2. 論文標題 Androgen receptor mRNA expression is a predictor for recurrence-free survival in non-muscle invasive bladder cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12885-019-5512-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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
研究分担者	河原 崇司  (Kawahara Takashi)  (40555570)	横浜市立大学・附属市民総合医療センター・助教   (22701)	
研究分担者	上村 博司  (Uemura Hiroji)  (50244439)	横浜市立大学・附属市民総合医療センター・准教授   (22701)	