

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791492

研究課題名（和文） サバイピン - Hsp90 複合体阻害剤による膀胱癌治療モデルの確立

研究課題名（英文） Intravesical administration of heat shock protein 90-survivin complex inhibitor suppresses the growth of non-invasive bladder cancer

研究代表者

矢野 晶大 (YANO AKIHIRO)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10333014

研究成果の概要（和文）：

【目的】癌特異的標的分子であるサバイピンおよび様々な oncogenic protein をクライアントとする Hsp90 をターゲットとするサバイピン-Hsp90 complex inhibitor, shepherdin を用い、非浸潤性膀胱癌に対する膀胱内注入療法モデルを確立する。【方法】膀胱癌細胞株を shepherdin 投与下に培養し、MTS assay、Western blot にて、細胞増殖ならびにサバイピン、Akt、cytochrome c などの蛋白の発現を検討した。また、膀胱癌細胞株 UM-UC-3-luciferase cell (2×10^6) を雌のヌードマウス膀胱内に注入、非浸潤性膀胱癌の orthotopic model を作成後、50 μ M shepherdin またはコントロール群として PBS を膀胱内に週 3 回注入(各群 n=8)し、IVIS vivo imaging system 下に shepherdin の抗腫瘍効果を検討した。【結果】Shepherdin 投与にて、膀胱癌細胞株 RT4, T24, UM-UC-3 の細胞増殖が抑制された。また、サバイピン、Akt の発現が抑制され、cytochrome c の発現が増加した。In vivo では、shepherdin 膀胱内注入群において、有意に発光シグナルが減少し、膀胱内 UM-UC-3 細胞の増殖が抑制された。【結論】サバイピン-Hsp90 complex inhibitor の膀胱内注入療法は、膀胱癌に対する分子標的療法として有用であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: Heat shock protein (Hsp) 90 is a molecular chaperone that is involved in signaling pathways for cell proliferation and/or survival of cancer cells. Hsp90 is highly expressed in cancer cells. Survivin, one of the Hsp90 client proteins, plays important roles in regulation of cellular survival. Survivin is selectively expressed in most solid cancers and is rarely detected in normal differentiated tissues. Recently, shepherdin, a novel anticancer peptidomimetic modeled on the survivin-Hsp90 binding interface was generated and shown to destabilize survivin plus additional Hsp90 client proteins, causing massive killing of cancer cells. In the present study, we investigated whether shepherdin can be a cancer-specific molecular targeting agent for non-invasive bladder cancer by intravesical administration using an orthotopic xenograft model.

METHODS: The effects of shepherdin on bladder cancer cell proliferation and client protein expression were examined by MTS assay and Western blotting, respectively. The effects of shepherdin by intravesical administration on the growth of UM-UC-3 orthotopic xenograft tumors were determined by IVIS real-time in vivo imaging system using UM-UC-3-luciferase cells.

RESULTS: Treatment of the bladder cancer cell lines with shepherdin resulted in dose-dependent cell killing as compared with untreated or control scrambled peptide-treated cells. UM-UC-3 cells treated with shepherdin exhibited loss of expression of Hsp90 client proteins, including survivin and Akt, and increase in the level of cytochrome c in the cytosol. The scrambled peptide did not modulate client protein expression. In vivo, intravesical administration of shepherdin abolished the growth of UM-UC-3 orthotopic xenograft tumors. Shepherdin treatment attenuated expression of survivin and Akt compared with the control group, and did not show any toxicity to normal bladder urothelial cells in the histological specimens.

CONCLUSIONS: This study is the first to show that intravesical administration of

HSP90-survivin complex inhibitor can be a potent and promising therapy for non-invasive bladder cancer minimizing damage to normal urothelial cells. Optimal cancer therapy is a fine balance between effective cancer cell killing and at the same time avoiding damage to the surrounding normal tissue. Intravesical administration of molecular targeting agent, which minimizes toxicity to healthy tissues, such as shepherdin may be the treatment of choice for patients with non-invasive bladder cancer in clinical setting.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
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、Hsp90、サバイピン、膀胱内注入療法

1. 研究開始当初の背景

近年、癌特異的な標的分子としてサバイピンが注目を集めている。サバイピンはアポトーシスを制御する IAP (inhibitor of apoptosis protein) ファミリータンパク質であり、アポトーシスを抑制、細胞増殖を促進させる。サバイピンは膀胱癌を含めた主要な癌種で過剰発現している一方、胎盤、精巣および CD34+骨髄幹細胞などを除いた、多くの正常な分化細胞では発現がみられない。尿路系においては、正常尿路上皮細胞には発現せず、膀胱癌に特異的に発現することから、膀胱癌特異的な分子標的になると考えられる。事実、サバイピン inhibitor は米国において既に clinical trial に入っており、今後、膀胱癌を含めた様々な癌において有用性が期待される薬剤である。

また、分子シャペロン Hsp90 (heat shock protein 90) は、様々な oncogenic protein をクライアントとし、それらの活性と安定化を維持、腫瘍細胞の生存・増殖・浸潤・転移に関与している。Hsp90 inhibitor は、Hsp90 に特異的に結合し、oncogenic protein の失活・分解を引き起こし、抗腫瘍効果を示す。Hsp90 inhibitor は既に phase study に入っており、近い将来本邦においても臨床使用される可能性の高い薬剤である。

以上、サバイピン、Hsp90は癌特異的な分子標的として極めて魅力的である。最近サバイピンとHsp90の両方の阻害作用を併せ持つ薬剤、shepherdinが、Dr. Altieriらのグループによって発表された(Cancer Cell 7:457-468, 2005)。Dr. Altieriよりshepherdinの提

供を受け、膀胱癌の in vivo 膀胱内注入モデルにおいて、shepherdinの治療効果を検討したい。

2. 研究の目的

癌特異的な標的分子であるサバイピンおよび様々な oncogenic protein をクライアントとする Hsp90 をターゲットとするサバイピン-Hsp90 complex inhibitor, shepherdinを用い、非浸潤性膀胱癌に対する膀胱内注入療法モデルを確立する。

3. 研究の方法

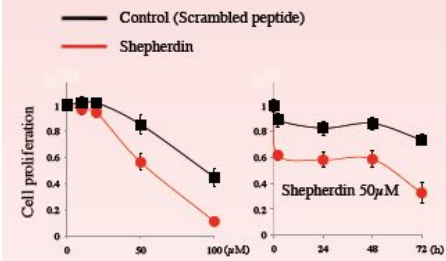
膀胱癌細胞株を shepherdin 投与下に培養し、MTS assay、Western blot にて、細胞増殖ならびにサバイピン、Akt, cytochrome c などの蛋白の発現を検討した。また、膀胱癌細胞株 UM-UC-3-luciferase cell (2×10^6) を雌のヌードマウス膀胱内に注入、非浸潤性膀胱癌の orthotopic model を作成後、50 μ M shepherdin またはコントロール群として PBS 100 μ l を膀胱内に週 3 回注入(各群 n=8)し、IVIS vivo imaging system 下に shepherdin の抗腫瘍効果を検討した。

4. 研究成果

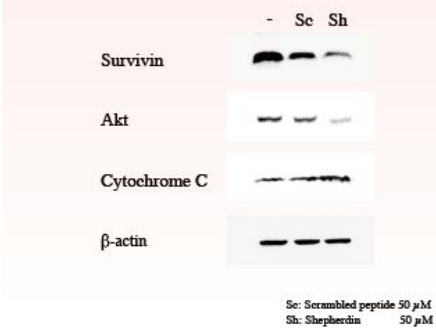
Shepherdin 投与にて、膀胱癌細胞株 RT4, T24, UM-UC-3 の細胞増殖が抑制された。また、サバイピン, Akt の発現が抑制され、cytochrome c の発現が増加した。In vivo では、shepherdin 膀胱内注入群において、有意に発光シグナルが減少し、膀胱内 UM-UC-3 細胞の増殖が抑制された。

以上、サバイビン-Hsp90 complex inhibitor の膀胱内注入療法は、膀胱癌に対する分子標的療法として有用であると考えられた。

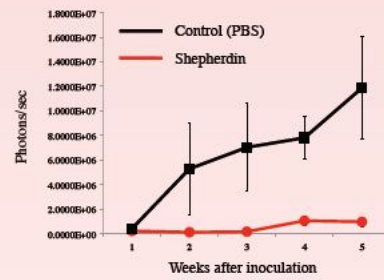
結果 1 Shepherdin は UMUC-3 cell の細胞増殖を濃度依存的、時間依存的に抑制する



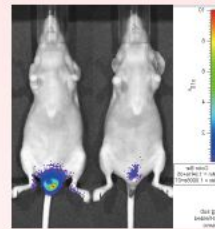
結果 2 Shepherdin は UMUC-3 cell の survivin, Akt の発現を低下させ、cytochrome C の発現を増加させる



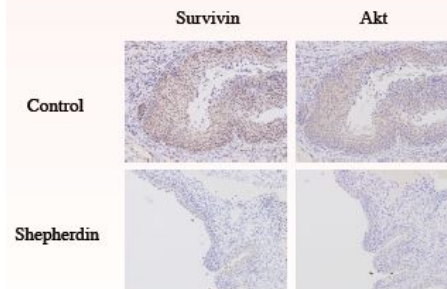
結果 3 UMUC-3 orthotopic model において、shepherdin は膀胱内の腫瘍増殖を抑制する



Typical tumor signal intensity



結果 4 Shepherdin は orthotopic model においても、UMUC-3 cell の survivin, Akt の発現を低下させる



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 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

第 105 回アメリカ泌尿器科学会 (2010/5/31)
Akihiro Yano et al.

**Intravesical administration of
heat shock protein 90-survivin
complex inhibitor suppresses the
growth of non-invasive bladder
cancer**

6 . 研究組織

(1)研究代表者

矢野 晶大 (YANO AKIHIRO)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10333014

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：