

令和元年6月21日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11006

研究課題名(和文) がん幹細胞性制御遺伝子を標的とした膀胱癌の新規治療法の開発

研究課題名(英文) To develop novel therapeutic targets in bladder cancer based on stemness

研究代表者

林 哲太郎 (Hayashi, Tetsutaro)

広島大学・医系科学研究科(医)・助教

研究者番号：60612835

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)：抗がん剤耐性膀胱癌で、IFN/STAT1シグナルの遺伝子の高発現が認められた。抗がん剤耐性株のSTAT1発現抑制は細胞増殖能を亢進させ、細胞周期解析でもG1期減少とS期増加を認めた。一方で、シスプラチンもしくはゲムシタビン投与下で耐性株のSTAT1発現抑制を行うと、細胞増殖能は有意に抑制され、アポトーシスが増加した。STAT1シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、細胞周期の抑制によって抗がん剤耐性獲得に関与する。一方で、抗がん剤併用でのSTAT1発現抑制は抗がん剤感受性を回復させることから、抗がん剤とSTAT1抑制の併用療法は薬剤耐性を克服する新規治療法となる可能性があると考えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗がん剤耐性膀胱癌細胞株と感受性膀胱癌細胞株の遺伝子発現を比較することで、抗がん剤耐性に関与する新規遺伝子群を同定した。その中でもSTAT1とその下流遺伝子は、細胞増殖に関与し、抗がん剤との併用療法の治療標的として、今後の膀胱癌治療の改善に貢献できると考えた。さらにSTAT1発現が治療効果予測因子として多変量解析においても独立した予後因子となり、診断マーカーとしての重要性を併せ持ち、治療選択での臨床上の重要性も確認された。

研究成果の概要(英文)：We studied to identify a genomic signature associated with resistance to cisplatin (CDDP) and gemcitabine (GEM), and explore novel therapeutic targets in bladder cancer (BC). STAT1 signaling is activated in chemoresistant BC. Higher STAT1 expression was an independent poor prognostic factor in multivariate analysis. STAT1 knockdown with chemotherapy decreased cell growth and increased apoptosis, suggesting that STAT1 silencing combined with GC restored its sensitivity.

研究分野：膀胱癌

キーワード：抗がん剤耐性膀胱癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

1. 本研究に関する国内・国外の研究動向及び位置づけ

抗がん剤耐性膀胱癌は予後不良だが、未だ有効な治療法の開発は進んでいない。抗がん剤耐性膀胱癌に対する新規治療法の確立には、その発症機序の解明が不可欠であり、優れた病態モデルや生体内環境に即した実験系の樹立が重要である。

2. 研究の目的

抗がん剤耐性膀胱癌は予後不良で、機序の解明と新規治療法の確立は急務である。私たちはこれまでに、膀胱癌の新規治療法の開発を目的に、抗がん剤来征細胞株を樹立し、耐性遺伝子を同定してきた。その結果、OLFM4 などのがん幹細胞性を制御する遺伝子が、抗がん剤耐性膀胱癌で高発現することを見出した。これらの研究成果を踏まえ、本研究では、抗がん剤耐性獲得の機序を明らかにし、マウス膀胱癌 *in vivo* 移植モデルを用いて、膀胱癌治療としての有効性を評価する。抗がん剤耐性機序の解明と、抗がん剤耐性膀胱癌の新規標的治療の確立が、本研究の目的である。

3. 研究の方法

膀胱癌の抗がん剤耐性機序を解明し、新規治療法を開発するため、以下の順序で研究を行った。1)抗がん剤耐性膀胱癌で高発現する候補遺伝子の発現抑制により、*in vitro* で最も細胞増殖を抑制する遺伝子を抽出する。2)発現抑制系を作成し、細胞増殖抑制の機序を検討した。

4. 研究成果

私たちは、抗がん剤感受性の親株に長期間の薬剤投与で耐性株を樹立し、親株と耐性株で遺伝子発現を比較し、耐性株では IFN/STAT1 シグナルの下流遺伝子 (IFITM1, IFI27, IFI44L, IFI6, IFITM1, IFIT1, OAS2) が高発現していた。臨床検体である TCGA のデータベースでも STAT1 と下流遺伝子は共発現し、Basal squamous や Luminal infiltrating cluster で STAT1 が高発現する傾向にあった。その STAT1 シグナルは、乳がんでは抗がん剤投与がない場合は予後因子と関与せず、抗がん剤投与下では予後不良に関与することが報告されている。膀胱癌の public database でも、抗がん剤治療例のない症例では STAT1 シグナルは予後因子とならないが、術前 GC 療法症例では STAT1 亢進症例で予後が不良な傾向に変化した。自件例の STAT1 の免疫組織染色では、主に細胞質での STAT1 発現が認められるが、STAT1 シグナル亢進を示す核染色像も認められ、GC 療法前と比べ、GC 療法後に STAT1 の発現が上昇する傾向にあり、GC 療法後において

のみ STAT1 の核染色像が認められた。次に GC 療法が行われた転移性尿路上皮癌では、STAT1 高発現群は有意に予後不良であり、PD 症例で STAT1 が高発現する傾向が認められました。さらに、多変量解析をした結果、STAT1 の高発現は、予後不良因子として知られている転移部位や貧血、BMI などと比較しても独立した予後不良因子であった。膀胱癌臨床検体でも STAT1 高発現症例は GC 療法後に予後不良と関係することが示唆され、STAT1 の GC 療法の効果予測因子としての意義が明らかとなった。次に、耐性株の STAT1 発現抑制による細胞増殖能を調べると、STAT1 発現抑制は細胞増殖能を亢進させ、細胞周期解析でも G1 期減少と S 期増加を認めた。細胞周期関連蛋白質を調べると、STAT1 発現抑制によって p27 の発現低下を認めた。耐性株において STAT1 シグナル亢進は、細胞周期抑制に働くことが明らかとなった。一方で、シスプラチンもしくはゲムシタピン投与下で耐性株の STAT1 発現抑制を行うと、細胞増殖能は有意に抑制され、アポトーシスが増加する結果であった。STAT1 シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、細胞周期の抑制によって抗がん剤耐性獲得に参与する。一方で、抗がん剤併用での STAT1 発現抑制は抗がん剤感受性を回復させることから、抗がん剤と STAT1 抑制の併用療法は抗がん剤耐性を克服する新規治療法となる可能性があると考えている。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 3 件)

T.Hayashi, R. Seiler, R.Bell, S.Ettinger, K.Wang, A.Goriki, H.Z.Oo, S.Awrey, K.Gust, W.Jaeger, T.Todenhoefer, M.Altamirano-Dimas, A.Matsubara, C.Collins, P.Black Predictive value and potentials for co-targeted therapy of STAT1 signaling in gemcitabine/cisplatin resistant bladder cancer. Annual EAU Congress 2019 (2019 年)

林哲太郎、神明俊輔、福岡憲一郎、後藤景介、稗田圭介、井上省吾、亭島淳、松原昭郎. STAT1 シグナルは膀胱癌の抗がん剤耐性化を促進し予後不良に寄与するが、STAT1 発現抑制は抗がん剤感受性を回復させ、新規併用治療法となる第 70 回西日本泌尿器科学会総会(2018 年)

林哲太郎、郷力昭宏、神明俊輔、ピーターブラック、井上省吾、亭島淳、松原昭郎 STAT1 シグナルは抗がん剤耐性膀胱癌で亢進し、STAT1 発現抑制が抗がん剤感受性を回復させ、新規併用治療法となる。第 105 回日本

泌尿器科学会総会(2017年)

T.Hayashi, R. Seiler, R.Bell, S.Ettinger, K.Wang, A.Goriki, H.Z.Oo, S.Awrey, K.Gust, W.Jaeger, T.Todenhoefer, M.Altamirano-Dimas, A.Matsubara, C.Collins, P.Black. STAT1 inhibition restored chemotherapy sensitivity in cisplatin/gemcitabine resistant bladder cancer. 31th EAU Congress, 2016.3.14, Munich

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：松原 昭郎

ローマ字氏名：(MATSUBARA, akio)

所属研究機関名：広島大学

部局名：医歯薬保健学研究科(医)

職名：教授

研究者番号(8桁)：10239064

研究分担者氏名：仲 一仁

ローマ字氏名：(NAKA, kazuhito)

所属研究機関名：広島大学

部局名：原爆放射線医学研究所

職名：准教授

研究者番号(8桁)：70372688

研究分担者氏名：亭島 淳

ローマ字氏名：(TEISHIMA, jun)

所属研究機関名：広島大学

部局名：医歯薬保健学研究科(医)

職名：准教授

研究者番号（8桁）: 20397962

研究分担者氏名：井上 省吾

ローマ字氏名：(INOUE, shogo)

所属研究機関名：広島大学

部局名：病院（医）

職名：講師

研究者番号（8桁）: 90457177

研究分担者氏名：神明 俊輔

ローマ字氏名：(SHINMEI, shunsuke)

所属研究機関名：広島大学

部局名：病院（医）

職名：助教

研究者番号（8桁）: 70749936

(2)研究協力者

研究協力者氏名：Peter C Black

ローマ字氏名：(Peter C Black)

研究協力者氏名：郷力 昭宏

ローマ字氏名：(GORIKI, akihiro)

研究協力者氏名：Htoo Zarni Oo

ローマ字氏名：(Htoo Zarni Oo)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。