

令和 2 年 7 月 5 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16817

研究課題名(和文)膀胱癌患者における膿尿発現の機序解明とBCG抵抗性克服に向けた治療戦略

研究課題名(英文)Elucidation of the mechanism of expression of pyuria in bladder cancer and therapeutic strategy for overcoming BCG refractory

研究代表者

佐竹 直哉 (Satake, Naoya)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：50421003

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：筋層非浸潤性膀胱癌における腫瘍関連好中球(TAN)の存在と、それらにおけるPD-L1の発現を確認するため、尿路上皮癌細胞を免疫染色を行った。TANの発現を確認することはできたが、膿尿との関連は示せなかった。またPDL-と膿尿およびTANとの間に関連性を認めることはできなかった。おそらく今回使用した好中球を染色するための抗体の選択を検討する必要があると思われる。しかし、今後症例数を重ね、その他の免疫染色用の抗体を使用し研究を続けていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膀胱癌細胞におけるPD-L1の発現がBCG療法の治療抵抗性と関連していることが報告されており、抗PD-L1ヒトモノクローナル抗体を併用したBCG療法について研究されているが、どのような患者になされるべきかの知見は定まっていない。さらに近年次々と新規分子標的薬が開発されているが、医療費の増大も問題となっている。本研究により、膿尿とBCG療法の効果減弱の機序が証明されれば、治療前に膿尿の存在を参考にした抗PD-L1ヒトモノクローナル抗体を併用したBCG治療などの新規免疫治療戦略が可能になると考えているとともにBCG抵抗性膀胱癌患者に対する個別化治療を可能とし、医療費の削減にもつながると考えている。

研究成果の概要(英文)：Urothelial carcinoma cells were immunostained to confirm the presence of tumor-associated neutrophils (TAN) and their expression of PD-L1 in non-muscle invasive bladder cancer. Although the expression of TAN could be confirmed, it could not be associated with pyuria. Furthermore, no association could be observed between PDL-1 and pyuria or TAN. Perhaps it is necessary to examine the selection of antibodies for staining the neutrophils used this time. However, the number of cases will be increased and the research will be continued using other antibodies for immunostaining.

研究分野：膀胱癌

キーワード：膀胱癌 PDL-1 BCG療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

筋層非浸潤性膀胱癌は、基本的に初期治療として経尿道的切除術 (Transurethral resection of the bladder tumor : TURBT) による膀胱温存を目指した治療方針がとられる。TURBT 後に膀胱内への腫瘍再発および再発腫瘍が筋層浸潤性癌へと移行する進展を可能な限り抑制することが重要課題である。このため術後に BCG 療法などを行われるのが標準治療となっているが、副作用も少なくないことから再発と進展を予測しながら、術後の治療戦略を立てることが必要である。さらに BCG 抵抗性膀胱癌も臨床的に少なからず存在し、その際は膀胱全摘除術などの患者の QOL を著しく損なう恐れのある治療へ移行することもあり、新たな治療戦略が必要となっている。

研究者らはこれまでに術前膿尿を有する患者では、BCG 療法後の再発率が高いことを世界で初めて報告している。その後、他の研究でも同様に術前の膿尿の存在が BCG 療法効果減弱に関与していることが報告されている。これらの結果から応募者は、膿尿の主成分である好中球がなんらかの反応を介して BCG 療法の効果減弱に関与しているのではないかと推測しているが、詳細な機序については未だ解明されていない。

さまざまな癌領域において炎症関連物質が免疫学的機序を介し抗腫瘍効果に大きくかかわっているということは以前より研究されている。膀胱癌においても、IL-2、IL-8、IL-10 が BCG 療法の治療効果予測に関与していると報告されている。また免疫応答には制御機構が存在し、過剰な反応や自己に対する反応が生じないように細胞性制御機構や免疫チェックポイントの存在が明らかになってきている。制御性 T 細胞や myeloid-derived suppressor cells (MDSC) などの細胞性制御機構や cytotoxic T lymphocyte-associated molecule 4 (CTLA-4)、programmed cell death-1, ligand-1 (PD-1,PD-L1) などの免疫チェックポイントが注目を集めている。各種癌治療において免疫制御機構を阻害する新規免疫療法の研究が進められおり、尿路上皮癌細胞においても CTLA-4 や PD-L1 の発現が確認されている。また現在開発が進められている抗 PD-L1 ヒトモノクローナル抗体(MPDL3280A)の進行性膀胱癌に対する有用性の報告も報告されている。BCG 療法に関して Oing らは PD-L1 の発現が高い膀胱癌患者は BCG 療法の効果が得られにくい傾向にあったことを報告している。それは膀胱癌細胞が PD-L1 を発現し BCG によって惹起される免疫応答を減弱していると考えられている。

しかしこの機序は、研究者らの報告した治療開始前の膿尿の存在と BCG 治療後の再発との関連を説明できない。腫瘍関連好中球(Tumor-associated-neutrophils:TAN)の存在は、これまでにさまざまな癌において予後不良を意味すると報告されている。しかし膀胱癌における TAN に関する研究はこれまでになされていない。またごく最近、肝細胞癌における TAN では PD-L1 が発現していることが報告されている。これらをもとに応募者は、TAN が膿尿と関連するとともに、TAN における PD-L1 の発現が BCG 療法の効果減弱と関連しているのではないかと推測した。本研究では筋層非浸潤性膀胱癌における TAN の存在と、それらにおける PD-L1 の発現を解析することにより、膿尿を有する膀胱癌における BCG 療法抵抗性獲得の機序を解明するとともに、BCG 治療抵抗性克服に向けた新たな治療戦略の確立を目的とする。

2. 研究の目的

膀胱癌腫瘍細胞における TAN の存在の証明

膿尿を有する患者の膀胱癌組織検体において、免疫染色を行い TAN の発現を確認する。

腫瘍細胞および TAN における PD-L1、IL-8 の発現

好中球遊走に関与する IL-8 の発現を同様に免疫染色により確認し、IL-8 の発現と TAN との相関について考察する。さらにそれら組織検体および TAN における PD-L1 の発現も確認する。

臨床データをもとにした統計学的解析

上記実験で得られたデータを膿尿の存在や BCG 療法抵抗性などの臨床病理学的所見と比較して統計学的解析を行い、膿尿を有する膀胱癌患者における BCG 療法効果減弱の機序を解明する。

3. 研究の方法

腫瘍浸潤好中球に関する免疫組織学的検討

使用組織：筋層非浸潤性膀胱癌患者における TUR 手術検体

使用抗体：CD66b 抗体

検討項目：TAN の発現の確認

TURBT にて切除された膀胱癌組織検体において、CD66b 抗体を使用した免疫染色を行い腫瘍組織内における TAN の存在を確認する。

膀胱癌組織検体における IL-8 の検出

使用組織：筋層非浸潤性膀胱癌患者における TUR 手術検体

使用試薬：抗 IL-8 抗体

検討項目：腫瘍細胞における IL-8 の発現、TAN との関連

TURBT にて切除された膀胱癌組織検体において、抗 IL-8 抗体を使用した免疫染色を行い腫瘍組織内における IL-8 の発現を確認する。また IL-8 と TAN の発現との相関について検討する。

膀胱癌組織検体における PD-L1 の発現

使用組織：筋層非浸潤性膀胱癌患者における TUR 手術検体

使用抗体：PD-L1 抗体

検討項目：腫瘍細胞および腫瘍関連好中球における PD-L1 の発現

TURBT にて切除された膀胱癌組織検体において、抗 PD-L1 抗体を使用した免疫染色を行い腫瘍組織および TAN における PD-L1 の発現を確認する。

統計学的解析

これらのデータを膿尿の存在や BCG 療法抵抗性をはじめとした臨床病理学的所見と比較して統計学的解析を行い、BCG 治療抵抗性との関連について考察する。

4. 研究成果

筋層非浸潤性膀胱癌における腫瘍関連好中球(TAN)の存在と、それらにおける PD-L1 の発現を確認するため、尿路上皮癌細胞を免疫染色を行った。TAN の発現を確認することはできたが、膿尿との関連は示せなかった。また PDL- と膿尿および TAN との間に関連性を認めることはできなかった。おそらく今回使用した好中球を染色するための抗体の選択を検討する必要があると思われる。腫瘍周囲に存在した好中球を観察、計測したが感染に伴う好中球の産生と腫瘍から発現した好中球の区別をする必要があると思われた。しかし、今後症例数を重ね、その他の免疫染色用の抗体を使用し研究を続けていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----