

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：若手研究(スタートアップ)

研究期間：2007-2008

課題番号：19890113

研究課題名(和文)

膀胱発癌における G1-S 期制御蛋白蓄積機序の解明と新規膀胱注化学療法開発への応用

研究課題名(英文)

Mechanisms of accumulation of G1-S phase cell cycle regulating protein in bladder carcinogenesis for the development of novel intravesical treatment modalities to bladder cancer.

研究代表者 渡部 淳(WATANABE JUN)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：10452335

研究成果の概要：

癌細胞に対する Triptolide の負荷により、p53 の転写共役因子のひとつである GSK-3 $\beta$  のリン酸化を介して p21 発現の減少が生じ、シスプラチン誘導性細胞死が増強することを明らかにした。また、TBP2 ノックアウトマウスにおいて、発癌物質 BBN の経口摂取により、正常マウスと比較して早期より悪性度の高い尿路上皮癌が生ずることを明らかにした。発癌に差異を与えたシグナル経路を解析し、発癌経路そのものに起因する抗癌剤耐性についても解析を進めることで、TBP2 により細胞周期関連蛋白発現を介し抗癌剤誘導性細胞死感受性の低下が認められることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	890,000	0	890,000
2008 年度	1,080,000	324,000	1,404,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,970,000	324,000	2,294,000

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・腫瘍学

キーワード：triptolide, TBP-2, urinary bladder, galectin-7, CXCL1

## 1. 研究開始当初の背景

我々は尿路上皮癌特異的な新規の p21 蓄積経路の同定に取り組み、これまで術前化学療法 (M-VAC 療法) を施行された患者検体よりマイクロアレイを行い、治療奏功例／不応例間における発現遺伝子の比較から、抗癌剤耐性関連遺伝子の抽出をおこなってきた。その中より酸化ストレス関連遺伝子である Thioredoxin binding protein-2 (TBP-2) に着目をし、この分子の関与する p53/mTOR 非依存性の p21 安定化機序の解明を進めてきた。

## 2. 研究の目的

TBP-2 経路の解明を更に進め、レドックス関連因子を制御することによる新しい p21-targeting therapy の可能性を検証した。

## 3. 研究の方法

(1)薬理的 p21 抑制が、尿路上皮癌細胞・正常尿路上皮細胞における抗癌剤誘導性細胞死に与える影響、(2)尿路上皮発癌における TBP2 経路の関与と p21 発現制御における役割の解明、の2点について実験と解析を行ってきた。(1)については主に Chinese herb 由来の化学物質である triptolide を用い、その p53 転写機能・および p21 発現制御に与える影響と分子機序について、プロテオミクスの手法を用い解析を行った。

## 4. 研究成果

この過程で、Triptolide が、p53 の転写共役因子のひとつである GSK-3 $\beta$  が重要な役割を果たしていることを解明しえた。癌細胞に対する同薬剤の負荷により、この転写共役因子のリン酸化を介して、p21 発現の減少が生じること、この p21 発現低下のため、シスプラチン誘導性細胞死の増強が生じることを明らかにすることができた。(2)の尿路上皮発癌における TBP2 経路の関与の検討については、本学の淀井研究室より TBP2 ノックアウトマウスの供与を受け、同マウスを用いた膀胱化学発癌実験を行い、同ノックアウトマウスにおいては、発癌物質である BBN の経口摂取により、正常マウスに比較して、非常に早期に悪性度の高い尿路上皮癌が多発し得ることをあきらかにすることができた。これら腫瘍組織から発癌に差異を与えたシグナル経路の解析をすすめるとともに、これらの発癌経路そのものに起因する抗癌剤耐性についても解析を進めている。これまで我々は、ヒト尿路上皮癌細胞株において TBP2 過剰発現垂株を作成し、これらの細胞においては抗癌剤誘導性細胞死感受性の低下が認められることを確認した。これらの実験系とともに、TBP2 発現変化と p21, p27 発現の影響、およびこれら細胞周期関連蛋白発現の変化が細胞死感受性に与える影響を引き続き検討している。

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 3 件)

①Y Matsui, J Watanabe, M Ikegawa, T Kamoto, O Ogawa and H Nishiyama. Cancer-specific enhancement of cisplatin-induced cytotoxicity with triptolide through an interaction of inactivated glycogen synthase kinase-3beta with p53. *Oncogene* 27, 4603-4614, 2008. 査読あり

②Holyoake A, O'Sullivan P, Pollock R, Best T, Watanabe J, Kajita Y, Matsui Y, Ito M, Nishiyama H, Kerr N, da Silva Tately F, Cambridge L, Toro T, Ogawa O, Guilford P. Development of a multiplex RNA urine test for the detection and stratification of transitional cell carcinoma of the bladder. *Clinical Cancer Research* 14(3), 742-74, 2008. 査読あり.

③Kawanishi H, Matsui Y, Ito M, Watanabe J, Takahashi T, Nishizawa K, Nishiyama H, Kamoto T, Mikami Y, Tanaka Y, Jung G, Akiyama H, Nobumasa H, Guilford P, Reeve A, Okuno Y, Tsujimoto G, Nakamura E, Ogawa O. Secreted CXCL1 is a potential mediator and marker of the tumor invasion of bladder cancer. *Clinical Cancer Research* 14(9), 742-749, 2008. 査読あり.

[学会発表] (計 2 件)

①Koji Nishizawa, Yoshiyuki Matsui, Hiroyuki Nishiyama, Jun Watanabe, Yoichiro Kajita, Toshiyuki Kamoto, and Osamu Ogawa. Thioredoxin-binding protein 2 as a predictive factor for response to cisplatin-based chemotherapy in bladder cancer. 9th Asian Congress of Urology. 2008/10/4, New Delhi, India

②西澤恒二、松井喜之、西山博之、渡部 淳、梶田洋一郎、賀本敏行、小川 修。Thioredoxin-binding protein 2 は膀胱癌におけるシスプラチン併用化学療法の耐性化因子である。第 67 回日本癌学会学術総会, 2008/10/29, 名古屋。

[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

なし

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

渡部 淳(WATANABE JUN)  
京都大学・医学研究科・助教  
研究者番号：10452335

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし