

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 9 月 6 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07420

研究課題名(和文) 難治性膀胱尿路上皮癌におけるアンドロゲンの意義と治療標的の可能性

研究課題名(英文) The significance of androgen on refractory urothelial carcinoma of the urinary bladder as a therapeutic target

研究代表者

中村 保宏 (Nakamura, Yasuhiro)

東北医科薬科大学・医学部・教授

研究者番号：80396499

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：免疫組織化学的検討にて、筋層浸潤膀胱尿路上皮癌と同リンパ節転移検体でのAR発現は概して低いものの、AR高発現を示す症例が一部存在することも確認された。ヒト膀胱尿路上皮癌細胞株であるT24細胞に対してAR強制発現株作成を行った結果、AR関連因子であるPMEPA1の発現上昇が確認された。他、T24細胞のPMEPA1強制発現株ではEMTマーカーのvimentinの発現が減少し、更にT24細胞のAR-PMEPA1二重強制発現株ではDHTの濃度依存的にcaspase-9の発現上昇、増殖能低下がみられた。以上から、膀胱癌ではAR、PMEPA1、EMTの関連性が病態に重要な影響を与えうる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまであまり関連性が提唱されてこなかった膀胱尿路上皮癌とアンドロゲンとの関係について、新知見を得ることが出来た。本研究結果により、アンドロゲンに着目した難治性膀胱尿路上皮癌の新たな診断バイオマーカーや治療方法の開発につながる可能性が期待できうるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Immunohistochemical analysis revealed that AR expression was generally low in cases with muscle-infiltrating urothelial carcinoma of the urinary bladder as well as its metastatic lesion of the lymph node, but there were some cases of high expression levels of AR. In vitro study demonstrated that an increased expression levels of PMEPA1, known as an AR-related factor, was confirmed in T24 cells with the forced expression of AR compared to original T24 cells. In addition, the expression level of vimentin, an EMT marker, decreased in T24 cells with the forced expression of PMEPA1, and caspase-9 expression and proliferation decreased in T24 cells with the forced expression of AR-PMEPA1 by DHT in a dose-dependent manner, respectively. These results suggested that the association between AR, PMEPA1 and EMT could play pivotal roles in the pathogenesis of bladder cancer.

研究分野：人体病理学

キーワード：膀胱尿路上皮癌 アンドロゲン受容体 (AR) PMEPA1 EMT

1. 研究開始当初の背景

本邦での膀胱尿路上皮癌の発生頻度は近年増加傾向にあり、死亡率や術後再発率は決して低くはない。加えて、進行例では化学療法を含め治療抵抗性となることが大きな問題となっている。更に、最近注目されている抗 PD-1 抗体阻害薬などの免疫チェックポイント阻害剤についても、これまでの報告からは必ずしも膀胱尿路上皮癌例では有効とはいえないのが実情である。一方、最近では下記の如く膀胱尿路上皮癌の病態とアンドロゲンとの関連を支持する報告がなされつつある。

(1) 本邦での膀胱癌罹患率の男女比は 3:1 で男性に多く、罹患率も男性のみが増加傾向である(宮崎淳他。病理と臨床. 2012)。

(2) 初発膀胱尿路上皮癌症例では、局所で合成されたアンドロゲンが癌細胞に発現するアンドロゲン受容体(AR)を介して癌の進展に影響を及ぼし(図 1)、かつそのアンドロゲン合成・代謝酵素や AR の発現度が癌の進行度(pT)と相関した (Hata S et al. Life Sci. 2017) (我々の報告論文)。

(3) 前立腺癌患者で膀胱癌を合併した患者のうち、抗アンドロゲン療法を受けた群と受けていない群では、前者での膀胱癌再発率が有意に低かった(Izumi K et al. Oncotarget. 2016)。

(4) 膀胱癌培養細胞株での実験で、AR アゴニスト添加により癌細胞のシスプラチンへの感受性が低下した(Kashiwagi E et al. Oncotarget. 2016)。

(5) ゲムシタピンに耐性を示す膀胱尿路上皮細胞癌株では、AR の発現が上昇しており、かつ AR 拮抗薬として前立腺癌治療で使用されているエンザルタミドにより癌細胞増殖が抑制されることが証明された(Kameyama K et al. Int J Oncol. 2017)。

以上から、我々は膀胱尿路上皮癌でも上記のような抗アンドロゲン療法に対する治療抵抗となる要因が存在しないし発生しその病態に影響を及ぼし得るのでは?、との着想に至った。

2. 研究の目的

難治例を中心とした膀胱尿路上皮癌症例でのアンドロゲンの意義を明らかにし、アンドロゲンがその新たな治療標的となりうるかを詳細に解析することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 外科手術で得られた難治性膀胱尿路上皮癌症例での原発巣とそのリンパ節転移検体において、AR の発現度を免疫組織化学的に検索する。

(2) ヒト膀胱癌培養細胞株に対して、AR およびその関連因子を強制発現させた細胞株を作成し、その機能的意義を解析する。

4. 研究成果

(1) 術前化学療法を行った筋層浸潤膀胱尿路上皮癌とそのリンパ節転移検体において、アンドロゲン受容体(AR)の発現状況を免疫組織化学的検討で評価した。結果、これらの症例では膀胱原発巣での AR 発現は概して低く、さらにリンパ節転移部ではほとんどの症例で陰性であることが確認された。一方、AR の高発現を示す症例が一部存在することも確認された。

(2) ヒト膀胱尿路上皮癌細胞株である T24 細胞に対して、AR 強制発現株作成を行った。結果、AR 関連因子である prostate transmembrane protein, androgeninduced 1 (PMEPA1)の mRNA の発現上昇が確認された。一方、同細胞株への DHT 添加では強制発現前株との比較で細胞増殖能には変化はなく、またアポトーシス関連遺伝子である caspase-3,8,9 の mRNA 発現量にも変化はみられなかった。

(3) T24 細胞の PMEPA1 強制発現株を作成し検討した結果、EMT マーカーである vimentin の発現が減少した。この結果は、T24 細胞 AR 強制発現株及び、AR-PMEPA1 二重強制発現株でも同様であった。よって、PMEPA1 を介して vimentin を発現が抑制されていることが示唆された。加えて、T24 細胞の AR-PMEPA1 二重強制発現株は DHT の濃度依存的に caspase-9 の発現が上昇し、かつ増殖能が低下あり、AR の活性化及び PMEPA1 の強制発現は T24 細胞の増殖能に影響を与える可能性が示唆された。

今後、AR、PMEPA1、EMT の三者の関係性について検討し、migration assay や invasion assay での検討が必要である。また、PMEPA1 が細胞内のタンパク質分解に関与し、TGFβ-

SMAD シグナルにも影響することから、尿路上皮癌における TGF β -SMAD シグナルに着目した検討も重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 島田洋樹、端秀子、酒井亮太郎、中村保宏
2. 発表標題 尿路上皮癌進展におけるAR及びPMEPA1の発現意義に関する検討
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 伊勢和恵、島田洋樹、端秀子、酒井亮太郎、藤島史喜、小山涼子、板倉裕子、佐藤峻、鷹橋浩幸、中村保宏
2. 発表標題 尿路上皮癌におけるAR及びER の発現意義に関する病理学的検討
3. 学会等名 第113回日本病理学会総会
4. 発表年 2024年

〔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
研究協力者	島田 洋樹 (Shimada Hiroki)		
研究協力者	端 秀子 (Hata Shuko)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	伊勢 和恵 (Ise Kazue)		
研究協力者	藤島 史喜 (Fujishima Fumiyoshi)		
研究協力者	笹野 公伸 (Sasano Hironobu)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関