

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16805

研究課題名（和文）進行性膀胱癌に対するRASを標的とした新規治療戦略の探索

研究課題名（英文）Exploring novel therapeutic strategies targeting the RAS for advanced bladder cancer

研究代表者

松下 良介（MATSUSHITA, Ryosuke）

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：80735366

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の成果として、以前、我々の教室では2種類の膀胱癌細胞株（BOYとT24）を用いて、ゲムシタピン耐性あるいはシスプラチン耐性細胞を用いてゲムシタピン、シスプラチンに対するIC50の測定やRNAseq解析を行ったが、ゲムシタピンおよびシスプラチン耐性膀胱癌において、交差耐性は見られなかった。そこで、新規RAS阻害剤を用いて機能解析を行ったが、これらの耐性細胞株に対して抗腫瘍効果を示した。更にpan-RAS阻害剤を投与した細胞を用いてRNAseq解析を行い、多くの遺伝子が劇的に抑制され、特に細胞周期や細胞分裂に関与するパスウェイが阻害剤により制御されることを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
進行性膀胱癌の予後は不良であるが、その理由としてファーストラインとして使用されている抗癌剤治療であるGC療法（Gemcitabine + Cisplatin）の効果が限定的であることが、挙げられる。そして、膀胱癌は他の泌尿器癌（前立腺癌や腎癌）に比べて明らかに治療手段が少なく、治療耐性獲得機序の解明や新規治療戦略の開拓が極めて重要と考えられる。本研究で我々は、薬剤感受性並びに耐性膀胱癌における新規RAS阻害剤によるRASを標的とした治療の可能性の探索と、それらに関わる癌シグナル経路を提示した。その為、新たな治療戦略の基礎データを提示することができたと考えられる。

研究成果の概要（英文）：As a result of this study, we previously performed IC50 measurements and RNAseq analysis on gemcitabine- and cisplatin-resistant cells using two bladder cancer cell lines (BOY and T24) in our laboratory, but gemcitabine- and cisplatin-resistant bladder cancer. However, no cross-resistance was observed in gemcitabine- and cisplatin-resistant bladder cancer cells. Therefore, we performed functional analysis using novel RAS inhibitors, which showed antitumor effects against these resistant cell lines. Furthermore, RNAseq analysis using pan-RAS inhibitor-treated cells confirmed that many genes were dramatically repressed, especially pathways involved in the cell cycle and cell division, which were regulated by the inhibitor.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：膀胱癌

1. 研究開始当初の背景

本邦における膀胱癌の罹患数は20,640人(2015年)、また死亡数は8,635人(2018年)である。進行性膀胱癌の予後は不良であり、再発・転移症例に対する抗癌剤治療や放射線治療は一時的に奏功しても必ず再発し死への転帰を辿る。特に抗癌剤治療はGC療法(Gemcitabine + Cisplatin)がファーストラインとして行われるが、その効果も限定的で、その他の抗癌剤治療や種々の分子標的薬の臨床試験は有効性を示せていない。最近では抗PD-1抗体薬であるPembrolizumabが進行性・転移性膀胱癌のセカンドライン治療として承認されたが、その奏功率は25%程度でありセカンドライン治療として十分とは言えない。このように、他の泌尿器癌(前立腺癌や腎癌)に比べて明らかに治療手段が少なく、治療耐性獲得機序の解明や新規治療戦略の開拓が極めて重要と考えられる。

2. 研究の目的

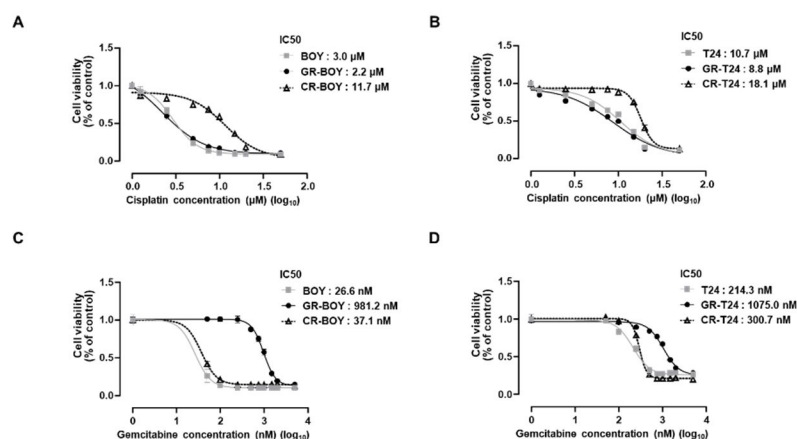
RASの過剰なシグナル亢進は腫瘍形成、細胞死の抑制、浸潤および転移などに寄与し、その変異や発現上昇がさまざまな癌で報告されており、最も有名な癌遺伝子として知られている。しかしながら、RASを標的にした阻害剤の臨床応用はなされておらず、臨床応用されている分子標的薬の多くはRASに関連する遺伝子を標的にしたものである。申請者のグループは、以前、RAS阻害剤であるSalirasibでは膀胱癌細胞株の抑制に高容量が必要であることを示し、更にSalirasibが投与された膀胱癌細胞株を用いたプロテオーム解析でRASの下流遺伝子が十分に抑制されていないことを報告した(Int J Oncol 2018;53:725-736)。一方、最近になり、新規のRAS阻害剤が報告され、その臨床応用が期待される(Cell 2017;168:878-889)。そこで本研究の目的として、薬剤感受性並びに耐性膀胱癌における新規RAS阻害剤によるRASを標的とした治療の可能性の探索と、それらに関わる癌シグナル経路を解明し、新たな治療戦略の基礎データを提示することとした。

3. 研究の方法

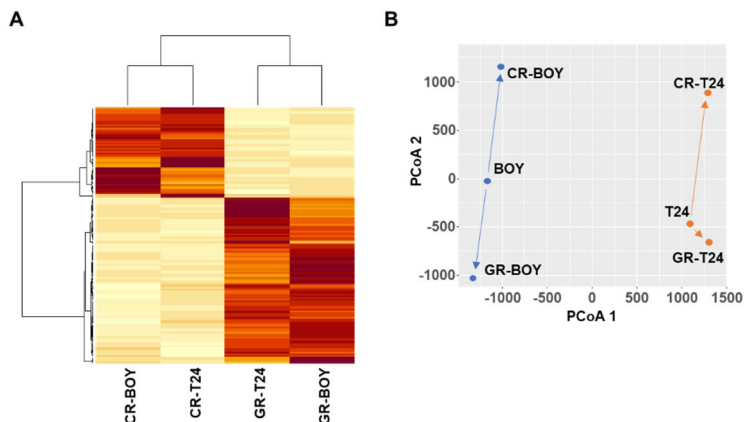
本研究では、薬剤感受性並びに耐性膀胱癌における新規RAS阻害剤によるRASを標的とした治療の可能性の探索と、それらに関わる癌シグナル経路を解明し、新たな治療戦略の基礎データを収集する。

4. 研究成果

本研究の成果として、以前、我々の教室では2種類の膀胱癌細胞株(BOYとT24)を用いて、ゲムシタピン耐性あるいはシスプラチン耐性細胞を用いてゲムシタピン、シスプラチンに対するIC50の測定を行ったが、ゲムシタピンおよびシスプラチン耐性膀胱癌において、交差耐性は見られなかった(右図)。

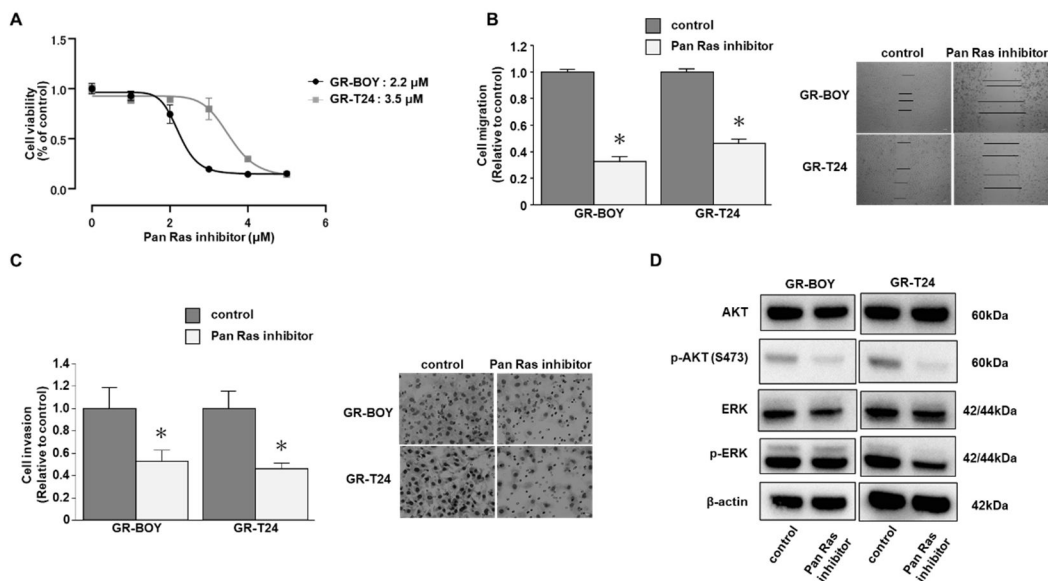


更にゲムシタピン耐性あるいはシスプラチン耐性細胞を用いて RNAseq 解析を行ったが、ゲムシタピンおよびシスプラチン耐性膀胱癌において遺伝子発現が異なっていることが示され(右図 A) 更に主座標分析においてもゲムシタピン耐性とシスプラチン耐性の間で明確な違いが示された(右図 B)。



次に、新規 RAS 阻害剤を用いて機能解析を行ったが、これらの耐性細胞株に対して抗腫瘍効果を示した

(下図はゲムシタピン耐性膀胱癌細胞株における結果であるが、同様の結果がシスプラチン耐性膀胱癌細胞においても認められた)。更に pan-RAS 阻害剤を投与した細胞を用いて RNAseq 解析を行い、多くの遺伝子が劇的に抑制され、特に細胞周期や細胞分裂に関与するパスウェイが阻害剤により制御されることを確認した (data not shown)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kawakami Issei, Yoshino Hirofumi, Fukumoto Wataru, Tamai Motoki, Okamura Shunsuke, Osako Yoichi, Sakaguchi Takashi, Inoguchi Satoru, Matsushita Ryosuke, Yamada Yasutoshi, Tatarano Shuichi, Nakagawa Masayuki, Enokida Hideki	4. 巻 611
2. 論文標題 Targeting of the glutamine transporter SLC1A5 induces cellular senescence in clear cell renal cell carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 99 ~ 106
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2022.04.068	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshino Hirofumi, Yokoyama Seiya, Tamai Motoki, Okamura Shunsuke, Iizasa Sayaka, Sakaguchi Takashi, Osako Yoichi, Inoguchi Satoru, Matsushita Ryosuke, Yamada Yasutoshi, Nakagawa Masayuki, Tatarano Shuichi, Tanimoto Akihiko, Enokida Hideki	4. 巻 13
2. 論文標題 Characterization and treatment of gemcitabine and cisplatin resistant bladder cancer cells with a pan RAS inhibitor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FEBS Open Bio	6. 最初と最後の頁 1056 ~ 1066
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/2211-5463.13616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Arima Junya, Yoshino Hirofumi, Fukumoto Wataru, Kawahara Ichiro, Saito Saeki, Li Gang, Fukuda Ikumi, Iizasa Sayaka, Mitsuke Akihiko, Sakaguchi Takashi, Inoguchi Satoru, Matsushita Ryosuke, Nakagawa Masayuki, Tatarano Shuichi, Yamada Yasutoshi, Enokida Hideki	4. 巻 25
2. 論文標題 LncRNA BCYRN1 as a Potential Therapeutic Target and Diagnostic Marker in Serum Exosomes in Bladder Cancer	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5955 ~ 5955
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms25115955	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

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

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
---------	---------