

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月 10日現在

機関番号：12602
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791745
 研究課題名（和文）ビスホスホネートによる泌尿器癌の治療感受性の増大とその分子生物学的機序の解析
 研究課題名（英文）Sensitizing effects of bisphosphonate to radiotherapy and chemotherapy in urologic cancers.
 研究代表者
 木島 敏樹（KIJIMA TOSHIKI）
 東京医科歯科大学・医学部附属病院・医員
 研究者番号：90569500

研究成果の概要（和文）：泌尿器癌（腎癌・膀胱癌・前立腺癌）において、STAT1 が治療抵抗性に関与していること、ビスホスホネートが臨床的投与量にて STAT1 のタンパク質レベルでの抑制を介し、放射線療法や化学療法の増感作用をもたらすことを示した。本研究結果は、速やかに臨床応用可能な複合療法の開発を可能とし、STAT1 を発現した多くの治療抵抗性癌の治療成績向上に貢献するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We revealed that STAT1 is one of the key factors regulating intrinsic resistance to cancer therapy in urologic cancers, including renal cell carcinoma, bladder cancer, and prostate cancer. Bisphosphonate was shown to sensitize urologic cancer cells to radiotherapy and chemotherapy by downregulating STAT1 at protein level. These results will contribute to establish the novel combination therapy and to improve the treatment outcomes of both these urologic cancers and other cancers which express STAT1.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

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

キーワード：ビスホスホネート、放射線治療、化学療法、泌尿器癌

1. 研究開始当初の背景

(1)泌尿器癌（腎癌・膀胱癌・前立腺癌）治療において、放射線療法・化学療法は共に重要な位置を占めている。しかしながら、それらの治療に対して抵抗性である症例も多く、治療感受性の増大が臨床上の課題となっている。腎細胞癌患者を対象とした我々の臨床研究において、現在広く使用されている骨転移治療薬であるビスホスホネートが、放射線療法の効果を増強させることが示されている（BJU Int. 2009;103:620-4）。ビスホスホネートの主な作用機序は、破骨細胞のアポト

ーシス誘導による骨吸収阻害であるが、腫瘍細胞に対する直接的抗腫瘍効果を有することも知られているため、同薬剤が放射線療法・化学療法への増感作用も有する可能性が示唆された。

(2)STAT(signal transducer and activator of transcription)はインターフェロン経路の刺激伝達を担う蛋白である。近年、その中の一つである STAT1 が、腎細胞癌を含む複数の癌種の放射線療法・化学療法抵抗性に関連することが報告され、治療感受性増大の標的物質として注目されている。前述の臨床試験の結果をふまえると、腎細胞癌患者に認められたビスホスホネートによる放射線増感作用に、STAT1 が関与している可能性が示唆された。

2. 研究の目的

(1) ビスホスホネートによる泌尿器癌（腎細胞癌、膀胱癌、前立腺癌）の治療増感効果を解析する。

(2) ビスホスホネートによる治療増感作用の分子生物学的機序を、STAT1 発現への影響を中心に解析する。

3. 研究の方法

(1) 使用細胞、薬剤

ヒト腎細胞癌株 4 種 (786-0, A498, ACHN, Caki-1)、前立腺癌細胞株 2 種 (PC3, DU145) および膀胱癌細胞株 4 種 (T24, 5637, UM-UC3, UM-UC14) を使用した。

化学療法薬剤として、ドセタキセル（前立腺癌）、シスプラチン（膀胱癌）を使用した。

(1) 【ビスホスホネートによる治療増感作用】

ビスホスホネート投与による治療増感作用を、放射線療法は clonogenic assay にて、化学療法は MTS assay および combination index 法にて評価した。

(2) 【泌尿器癌における STAT1 発現と治療抵抗性の関連】

各癌細胞株の STAT1 発現状況を Western blot にて評価し、化学療法および放射線療法抵抗性との関連を検討した。

さらに、siRNA によるノックダウン系・cDNA 導入による強制発現系を用いて、STAT1 発現の増減に伴う治療抵抗性の変化を検討した。

(3) 【ビスホスホネートによる STAT1 抑制機構の解明】

ビスホスホネート投与後の、STAT1 および関連蛋白の発現変化を Western blot にて評価した。さらに STAT1 mRNA の変化を Real time RT-PCR 法により検討した。

4. 研究成果

(1) 【ビスホスホネートによる治療増感作用】
ビスホスホネート投与は、各泌尿器癌の放射線療法感受性を増大させ、前立腺癌、膀胱癌の化学療法感受性を増大させた。これらの治療感受性増大はアポトーシスの誘導を介するものであった。

治療感受性の増大は、ビスホスホネートの臨床的投与量にて到達しうる濃度（10-20 μM ）にて認められた。

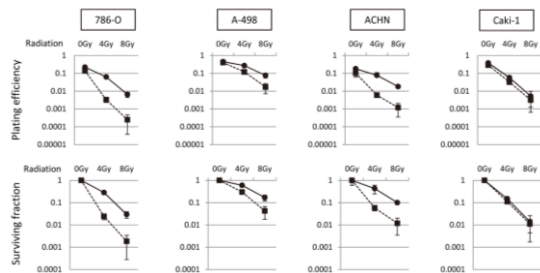


図 1. 腎細胞癌におけるビスホスホネート投与の放射線増感作用 (clonogenic assay)

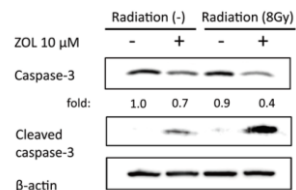


図 2. ビスホスホネート投与と放射線療法によるアポトーシス経路の活性化

(2) 【泌尿器癌における STAT1 発現と治療抵抗性の関連】

STAT1 高発現株では放射線療法・化学療法抵抗性が高いことが示された。さらにビスホスホネートによる治療増感作用は、STAT1 高発現株においてのみ認められており、ビスホスホネートによる治療増感作用が、STAT1 抑制を介している可能性が示唆された。

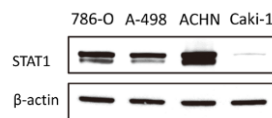


図 2. 腎細胞癌における STAT1 発現比較 (図 1 において、増感作用が認められた 3 種に STAT1 発現が認められた)

さらに、siRNA によるノックダウン系・cDNA 導入による強制発現系を用い、STAT1 抑制が治療感受性増大、STAT1 の過剰発現が治療感受性低下につながることを示された。

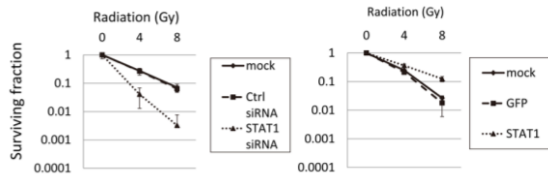
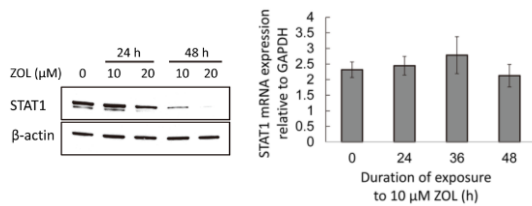


図 3. STAT1 ノックダウンによる放射線感受性増大 (左) および強制発現での放射線感受性低下 (右)

(3) 【ビスホスホネートによる STAT1 抑制機構の解明】

ビスホスホネート投与は、各種癌細胞における STAT1 発現を蛋白レベルで低下させたが、mRNA レベルでは抑制しなかった。これらの結果は、ビスホスホネートの臨床的投与量にて到達しうる濃度 (10-20 μM) にて認められた。



STAT1 は細胞質内に大量に非活性型として存在しており、刺激伝達時にのみ一部が活性化され核内へ移行する。上記の結果より、ビスホスホネートによる STAT1 抑制機構は、ユビキチン化などを介した蛋白分解による細胞質内 STAT1 総量の低下と考えられた。

(4) 本研究の意義および今後の展望

STAT1 と治療抵抗性との関連は、これまでも複数の癌種において示されていたが、本研究は初めて、泌尿器癌においても STAT1 が治療抵抗性と深く関わることを示した。

STAT1 は放射線療法・化学療法の感受性増大の標的物質となりうるが、現在、臨床的に応用可能な STAT1 の選択的阻害剤は開発されていない。本研究は、ビスホスホネートという広く臨床応用されている薬剤が、その臨床的投与量にて STAT1 を抑制しうることを示した。これらの研究結果は、治療増感を目的とした複合療法として速やかな臨床応用が可能であり、多くの治療抵抗性癌の治療成績向上に貢献しうる。

本研究は、ビスホスホネート投与が、蛋白分解により細胞質内の STAT1 量を低下させることで、STAT1 発現を抑制していることを示した。この STAT1 抑制機構をさらに研究することは、より有効性の高い選択的 STAT1 阻害剤の開発につながり、さらなる治療成績向上につながるものと考えられる。

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1件)

Toshiki Kijima, Fumitaka Koga, Yasuhisa Fujii, Soichiro Yoshida, Manabu Tatokoro, and Kazunori Kihara. ZOLEDRONIC ACID SENSITIZES RENAL CELL CARCINOMA CELLS TO RADIATION BY DOWNREGULATING STAT1. PLoS ONE. 査読有. [Epub ahead of print.]
DOI: 10.1371/journal.pone.0064615

[学会発表] (計2件)

Toshiki Kijima. Zoledronic acid sensitizes renal cell carcinoma cells to radiation by downregulating STAT1. European Association of Urology, 28th annual congress. 2013/03/19, Milan, Italy.

Toshiki Kijima. Radiosensitizing effect of zoledronic acid on renal cell carcinoma cells by downregulating STAT1. American Urological Association, 2013 annual meeting. 2013/05/08. San Diego, CA, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木島 敏樹 (KIJIMA TOSHIKI)

東京医科歯科大学・医学部附属病院・医員
研究者番号：90569500

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：