

膀胱がん転移を かぜ薬で止める



手稲溪仁会病院泌尿器科

松本隆児主任医長

●背景

膀胱がんは腫瘍が粘膜層にのみ存在する筋層非浸潤性膀胱がんと、筋層にまで浸潤し転移する可能性がある浸潤性膀胱がんに大別される。浸潤性膀胱がんと診断されると根治的手術および尿路変更が必要となり、術後も再発・転移の確率が50%以上と高い。一度再発・転移が認められると、治療薬は現在のところプラチナ製剤ベースの化学療法のみと限られており、5年生存率は20%未満と予後不良である。以上より進行膀胱がんに対する治療成績の向上には、がんの臨床的特性を示す分子機構を探索し、それに基づく新規治療標的分子の同定が重要と考えられる。

これまでも膀胱がんの転移あるいは予後不良と関連する多くの分子が報告されている。しかしこれらの報告は、実際のがんの浸潤・転移過程を正確に反映したものではない可能性がある。動物実験モデルの中でも同所性移植モデルを用いることで、より臨床的特性に近いがん浸潤・転移過程の解析が可能と考えられる。Luciferaseによる発光イメージングを用いた動物実験モデルは報告されて久しく、膀胱がん同所性移植モデルにおいてもその有用性が報告されている。近年、Luciferaseを改良し数個の細胞からin vivoで検出できるLuciferase-2が発表され、膀胱がん転移モデルへの応用も報告されている。我々はこのモデルを改良して、膀胱がん同所性移植から転移細胞の分離培養を行い、マイクロアレイを用いて転移に関連する遺伝子発現変化を解析し、進行・転移がん特異的治療標的の探索とその機能解析を行った。

●研究手法

In vivoマウスでがん細胞の動きを高感度に解析可能なLuciferase2および転移細胞の分離培養するための標識として蛍光タンパク質tdTomatoをヒト浸潤性膀胱がん細胞株UM-UC-3に遺伝子導入した(図1)。同所移植には、6~8週齢雌のヌードマウスを使用した。24Gの血管留置針をマウスの膀胱内に挿入し、がん細胞の付着を促すためpoly-L-lysineを注入後PBSで洗浄し、5x10⁶個の細胞を膀胱内に接種した。膀胱内のがん細胞が生着したマウスに対して、週2回IVIS Spectrumを使用し、原発巣の増大および転移巣の有無を観察した。肺、肝臓、骨への転移を確認後、膀胱原発腫瘍細胞と各転移細胞株を樹立し、マイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子発現変化を検討した。マイクロアレイの結果新たに見出した膀胱がん新規転移関連分子の中からこれまで様々ながん種において抗がん剤耐性との関連が報告されているAldo-keto reductase (AKR) 1C1に着目し、膀胱がんの転移・浸潤機構および化学療法耐性への関与についての解析を行った。また、転移を認めた膀胱がん25症例の手術検体を用いて原発巣と転移巣の

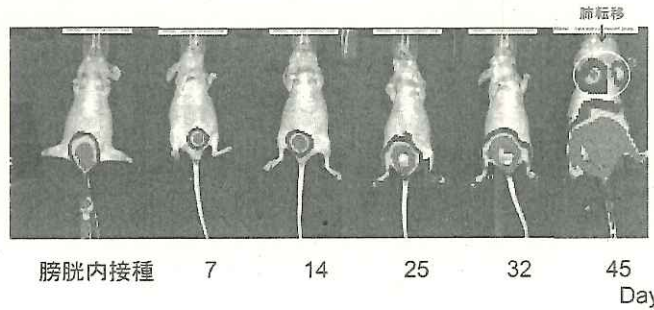


図1 膀胱がんマウス同所性移植肺転移モデル

AKR1C1発現変化を免疫組織染色を用いて解析した。

●研究成果

同所性移植転移モデルを用いて、膀胱原発細胞、肺・肝・骨への各転移細胞を分離培養することができた。網羅的遺伝子発現解析の結果、膀胱原発細胞に比べ肺・肝・骨転移細胞各々で共通して2倍以上発現が上昇している遺伝子を8つ認めた。特に発現亢進が著明なAKR1C1について、real-time PCRとウエスタンブロット法により転移細胞におけるAKR1C1が発現亢進していることを確認した。さらにヒト膀胱がん手術検体の原発巣と転移巣でAKR1C1の発現を免疫組織染色で比較した結果、転移巣におけるAKR1C1の発現は有意に上昇していた(図2)。これまでの

報告からAKR1C1の発現亢進には炎症性サイトカインが関与していることが考えられ、転移細胞で発現亢進していた炎症性サイトカイン

フルフェナム酸が抑制 アルドケト還元酵素を阻害

であるIL-6とIL-1βを浸潤性膀胱がん細胞株に添加したところ、IL-1βの添加でAKR1C1の発現が亢進した。AKR1C1の機能解析を目的に、siRNA法でAKR1C1 knockdownしたところ、invasion assayで浸潤能の有意な低下を認めた。

また、AKR1C1阻害剤であるフルフェナム酸投与と同様に浸潤能の低下を認めた。AKR1C1の発現亢進は、様々ながん種において抗がん剤耐性との関連が示されている。AKR1C1を含むAKR1Cの発現亢進が著明な肝転移細胞、骨転移細胞でCDDPに対する感受性を調べたところ、野生型細胞に比べCDDP感受性が有意に低下しており、さらにフルフェナム酸投与により肝転移細胞・骨転移細胞におけるCDDP感受性の上昇を認めた。これらの結果から、フルフェナム酸のようなNSAIDsには膀胱がんの浸潤・転移抑制効果があると同時に、抗がん剤の効き目をよくする効果がある可能性が示唆された。もともとNSAIDsにはプロスタグランジン抑制により抗がん作用を発揮することが知られているが、本研究では別の視点でNSAIDsの抗がん作用を示したといえる。

●今後への期待

AKR1C1の酵素活性阻害剤は実臨床で一般的に用いられているNSAIDsであるため、他の分子標的療法に比べてドラッグリポジショニングは容易である。今後の研究によりAKR1C1阻害剤が浸潤性膀胱がんの治療に有効であるとの十分なエビデンスが得られれば、臨床応用へとつながる可能性がある。今後我々はin vitroで最も治療効果を上げられるAKR1C1阻害剤を探索し、マウスモデルを用いて生体内でのAKR1C1阻害剤の有効性を評価していきたいと考えている。本研究は、北大腫瘍病理学分野・田中伸哉教授と腎泌尿器外科学分野・篠原信雄教授の指導のもと共同研究として遂行した。(英科学誌「Scientific Reports」に4日付で公表)

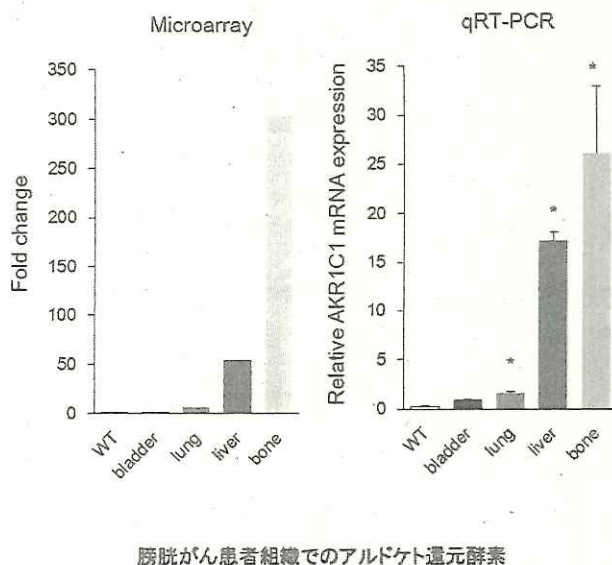


図2 転移細胞におけるAKR1C1の発現亢進

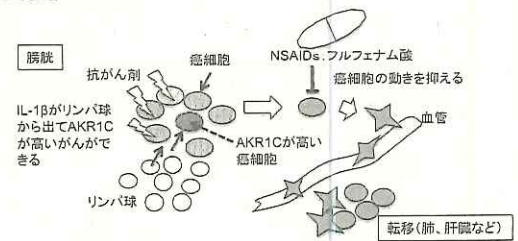


図3 IL-1βの働きで、がん細胞中のAKR1C1量が増加。がん細胞が抗がん剤耐性を獲得し、がん細胞の動きを高める。フルフェナム酸はこのAKR1C1を阻害する

実証