

論文内容の要旨

論文提出者氏名 高村 俊哉

論文題目

FGFR inhibitor BGJ398 and HDAC inhibitor OBP-801 synergistically inhibit cell growth and induce apoptosis in bladder cancer cells.

論文内容の要旨

進行性膀胱癌の治療はシスプラチンをベースとする化学療法が標準的治療として長年確立されてきたが、その予後は良好と言えない。治療効果や細胞毒性の観点から、化学療法に代わる薬物治療が待たれている。

膀胱癌では、様々な遺伝子異常が報告されている中で、近年、FGFR 経路、特に FGFR1/3 経路の異常が生じていることが明らかになってきた。そこで我々は、今回、FGFR 阻害剤である BGJ398 に着目した。

一方、膀胱癌細胞内の HDAC1、HDAC2 の発現量と悪性度が相関することが報告されている。そこで、以前に我々が p21 誘導剤のスクリーニングにより見出した、強力な HDAC 阻害活性を有する OBP-801 に着目した。

ヒト膀胱癌細胞である UM-UC-3 および T24 に対し、BGJ398 と OBP-801 の併用により細胞増殖が著明に抑制されることが示され、この併用効果は combination index を用いて検討した結果、相乗的であることが判明した。さらに flow cytometry を用いた細胞周期解析の結果、いずれの膀胱癌細胞に対しても、二剤併用により著明なアポトーシスを誘導することが示された。二剤併用によるアポトーシスは pan-caspase 阻害剤である zVAD-fmk によって有意に抑制され、併用による caspase-3,8,9 の活性化が Western blot にて確認されたことから、アポトーシスが caspase 依存的であると考えられた。さらにアポトーシス促進因子である Bim の発現増加、アポトーシス阻害因子である FLIP、survivin の発現低下を認めた。この結果から、BGJ398 と OBP-801 併用によるアポトーシスは、intrinsic pathway と extrinsic pathway の双方の活性化の結果である可能性が考えられた。

BGJ398 と OBP-801 の併用によるアポトーシスにおいて、Bim の関与につい

て siRNA を用いて検討した。その結果、UM-UC-3 および T24 のいずれの細胞においても、BGJ398 と OBP-801 の併用で認められたアポトーシスが、Bim のノックダウンにより部分的に、しかしながら有意に減弱したことから、Bim が二剤併用によるアポトーシスに関与していることが示唆された。

Bim の発現は ERK 経路によって制御されているといわれている。ERK 経路の活性化により Bim のリン酸化が誘導され、プロテアソーム依存性に Bim の分解が促進することが報告されている。そこで BGJ398 と OBP-801 による ERK 経路に及ぼす影響について調べたところ、UM-UC-3 においては、二剤併用により ERK のリン酸化の阻害が認められた。UM-UC-3 の場合、BGJ398 と OBP-801 の併用による Bim の発現増加には ERK 経路が関与している可能性が示唆された。

T24 においては、FGFR 受容体の docking タンパク質である FRS2 のリン酸化が、二剤併用によってさらに顕著に阻害されていた。一方、ERK のリン酸化レベルに対する二剤併用の影響は認められなかった。しかしながら、二剤併用によって、チロシンホスファターゼの一種である Shp2 のリン酸化が阻害されるという結果が得られた。Shp2 は、ERK 経路の活性化を介し、Bim の発現を下方制御し、様々な癌の増殖を促進することが報告されている。本研究では、T24 に対する二剤併用の作用として、Shp2 のリン酸化が阻害されたが、ERK のリン酸化は阻害されなかったことから、ERK 非依存的な Shp2 を介する Bim の発現制御機構が存在する可能性が示唆された。UM-UC-3 と T24 に対し、異なる分子機序により併用効果が表れている点について、今後さらに検討していく余地があると考えられた。

本研究の結果から、BGJ398 と OBP-801 の併用によるアポトーシス増強には、Bim の発現上昇が重要な役割を担っていることが示唆された。本成果により、悪性度の高い膀胱癌患者において、FGFR 阻害剤 BGJ398 と HDAC 阻害剤 OBP-801 の併用療法が、今後、新たな治療法の一つになることを強く期待している。