

論 文 内 容 要 旨

題目 The Involvement of Hepatocyte Growth Factor-MET-Matrix Metalloproteinase 1 Signaling in Bladder Cancer Invasiveness and Proliferation. Effect of the MET Inhibitor, Cabozantinib (XL184), on Bladder Cancer Cells

(膀胱癌進展、浸潤における HGF-MET-MMP1 signaling の関与と MET 阻害薬、カボザンチニブの有効性)

著者 Terumichi Shintani, Yoshito Kusahara, Kei Daizumoto, Dondoo Tsogt-Ochir, Hiroki Yamamoto, Hidehisa Mori, Tomoya Fukawa, Hiroyoshi Nakatsuji, Tomoharu Fukumori, Masayuki Takahashi, Hiroomi Kanayama

平成 29 年発行 Urology に掲載予定

内容要旨

筋層浸潤性膀胱癌は非常に予後不良であり、その浸潤のメカニズム解明はその治療戦略や予後改善に大きく貢献すると思われる。我々は、以前の論文で、膀胱癌細胞株と線維芽細胞株を共培養することにより、線維芽細胞からの HGF 分泌が亢進すること、そして、筋層浸潤性膀胱癌患者の血清 HGF は、筋層非浸潤性膀胱癌患者よりも有意に高値であることを報告した。

今回、我々は、HGF-MET 経路と膀胱癌進展の関連を解明するために、膀胱癌細胞株を用いて、HGF 投与下の浸潤性や遺伝子発現の変化について調べた。また、MET、VFGFR2 の阻害薬であるカボザンチニブ投与下において、その浸潤性や遺伝子発現がどう変化するかを調べた。

まず、膀胱癌細胞株の MET の発現をウェスタンブロットで確認したところ、5 細胞株中 4 細胞株で発現を認め、その中で特に 5637 細胞株と T24 細胞株が高発現であった。膀胱癌細胞における HGF の役割を明らかにするために、T24 細胞株を用いて HGF 投与による浸潤能をマトリゲル浸潤アッセイを用いて評価したところ、HGF によって浸潤能が有意に亢進することがわかった。そして、HGF 投与によって亢進したこれらの細胞の浸潤能は、カボザンチニブ投与により有

意に抑制されることが明らかとなった。続いて、このメカニズム解明のために、マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を施行した。5637細胞株においてHGF投与で発現変化する遺伝子群の中から浸潤関連遺伝子であるMMP遺伝子群に着目した。5637やT24、UMUC3細胞株でMMP関連遺伝子の発現を、PCR法を用いて検討したところ、5637細胞株ではHGF投与によりMMP-1の発現が有意に上昇し、T24、UMUC3細胞株ではMMP-1、MMP-3の発現が有意に上昇していることがわかった。さらにカボザンチニブ投与により、これらの遺伝子の発現は有意に抑制されることがわかった。これらの結果を臨床検体で確認するために、公開データベースを用いて遺伝子発現解析を行ったところ、MET高発現患者はMMP-1高発現であることがわかった。

上記の結果から膀胱癌の進展や浸潤能亢進に、HGF-MET-MMP-1経路の活性化が深く関与することが示唆された。さらに、カボザンチニブは、HGF-MET-MMP-1の経路を抑制することで、膀胱癌の浸潤を抑制することが示唆された。

本研究からHGF-MET-MMP-1の経路は、浸潤性膀胱癌治療の新たなターゲットになる可能性と、カボザンチニブが浸潤性膀胱癌の治療薬剤になりうることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1324 号	氏名	新谷 晃理
審査委員	主査 片桐 豊雅 副査 丹黒 章 副査 常山 幸一		

題目 The Involvement of Hepatocyte Growth Factor-MET-Matrix Metalloproteinase 1 Signaling in Bladder Cancer Invasiveness and Proliferation. Effect of the MET Inhibitor, Cabozantinib (XL184), on Bladder Cancer Cells
 (膀胱癌進展、浸潤における HGF-MET-MMP1 signaling の関与と MET 阻害薬、カボザンチニブの有効性)

著者 Terumichi Shintani, Yoshito Kusuvara, Kei Daizumoto, Tsogt-Ochir Dondoo, Hiroki Yamamoto, Hidehisa Mori, Tomoya Fukawa, Hiroyoshi Nakatsuji, Tomoharu Fukumori, Masayuki Takahashi, Hiroomi Kanayama.
 平成 29 年発行 Urology に掲載予定
 (主任教授 金山 博臣)

要旨 筋層浸潤性膀胱癌は予後不良であり、その浸潤メカニズム解明は治療戦略や予後改善に大きく貢献すると思われる。申請者らは、Hepatocyte growth factor (HGF) と HGF の受容体である Mesenchymal epithelial transition factor (MET) に着目し、血清 HGF 濃度が筋層浸潤性膀胱癌患者において高値であること、癌間質相互作用を介して膀胱癌進展に関与することを報告している。
 今回、申請者は HGF-MET 経路と膀胱癌進展の関連を解明するため、膀胱癌細胞株を用いて HGF 投与による浸潤性や遺伝子発現の変化について調べた。また、MET の阻害薬であるカボザンチニブ投与により、その浸潤性や遺伝子発現がどう変化するかを調べた。

得られた結果は以下のごとくである。

- 1) 膀胱癌細胞株における MET の発現をウェスタンブロットで確認したところ、5 細胞株中 4 細胞株において MET の高発現を認めた。
- 2) HGF の関与を明らかにするために、5637 および T24 細胞を用いて HGF 投与による浸潤能の評価を行ったところ、HGF によって浸潤能が有意に亢進した。また、HGF 投与によって亢進したこれらの細胞の浸潤能は、カボザンチニブ投与により有意に抑制された。
- 3) cDNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析では、5637 細胞において HGF 投与により Matrix Metalloproteinase (*MMP*) 関連遺伝子群の発現が亢進していた。
- 4) 5637、T24 細胞における *MMP* 関連遺伝子の発現を検討したところ、HGF 投与により 5637 細胞では *MMP1* の発現が有意に亢進し、T24 細胞では *MMP1*、*MMP3* の発現が有意に亢進していた。さらにカボザンチニブ投与により、これら遺伝子の発現は有意に抑制された。
- 5) 公開データベースを用いて膀胱癌組織における遺伝子発現解析を行ったところ、*MET* 高発現患者では *MMP1* が高発現であった。

以上の結果から、膀胱癌の進展や浸潤能亢進に HGF-MET-MMP1 経路の活性化が関与することが示された。さらに、カボザンチニブは HGF-MET-MMP1 の経路を抑制することにより膀胱癌の浸潤や進展を抑制することが示唆された。HGF-MET-MMP1 経路が浸潤性膀胱癌治療の新たな治療標的となり、カボザンチニブの有効性を明らかにしたことは、筋層浸潤性膀胱癌の治療戦略に寄与するところ大であり、学位授与に値すると判定した。