Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

Significance of 4E-binding protein 1 as a therapeutic target for invasive urothelial carcinoma of the bladder

Nishikawa, Masatomo

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2015-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第6377号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006377

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Significance of 4E-binding protein 1 as a therapeutic target for invasive urothelial carcinoma of the bladder

浸潤性膀胱癌治療標的としての 4E-binding protein 1 の重要性

神戸大学大学院医学研究科
腎泌尿器科学
（指導教員：藤澤正人教授）
西川　昌友

【緒言】

浸潤性膀胱癌は根治的治療として根治的膀胱全摘出術が施行し得たとしても、患者の内半数近くが再発する。また進行膀胱癌に対する化学療法は、シスプラチンを基準としたレジメンが 1980 年代に開発され生存率の関与に寄与した。以降細かなレジメンの改良はあったものの現在に至るまで大きな変化はなく、一旦再発すればその予後は極めて不良である。結果として全世界で年間膀胱癌による死亡は年間 150000 人を超える。つまり浸潤性膀胱癌は非常に悪性度が高く、従来の治療には限界があり、浸潤性膀胱癌の進展と関連する分子生物学的特徴を探求し、進行症例に対する最適な治療戦略の確立を目指すことは重要と考えられる。

Akt/mTOR (mammalian target of rapamycin) 経路は近年、増殖・分化・代謝を制御し、様ざまな癌腫の進展において重要な役割を担うことが解明されてきた。泌尿器科領域においても、転移性腎細胞癌の薬物治療領域では mTOR 経路を標的とした mTOR 阻害剤である temsirolimus, everolimus の登場により、転移性腎細胞癌患者の予後は劇的に改善した。しかし膀胱癌においても同様にその活性化が癌の進展に関与すると考えられているものの、詳細は未だ不明である。

本研究は Akt/mTOR 経路を構成する主要な 5 分子、PTEN、リン酸化（p-）Akt、p-mTOR、p-p70s6K および p-4E-BP1 の摘出標本における発現レベルを免疫組織学的に評価し、その発現レベルが根治的膀胱全摘出術を施行された浸潤性膀胱癌患者の予後に及ぼす影響の検討を第一の目標とした。つぎにヒト浸潤性膀胱癌モデル KoTCC-1 を用い、temsirolimus に対する感受性を検討し、治療下での mTOR 経路の構成分子の発現レベルの変化を検討した。

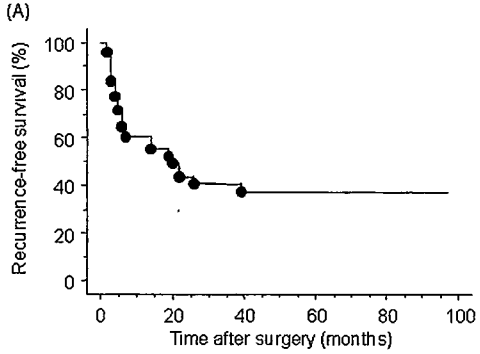
2008 年から 2012 年の間で当院において、根治的膀胱全摘出術を施行された浸潤性膀胱癌患者 49 例を対象とした。摘出標本における上記分子の発現を免疫組織学的に評価した。以下に症例背景を示す。

Table1 Patient characteristics

Median age (years, range)	74 (42-84)	PTEN expression (%)	
Gender (%)		weak	22 (45.0)
male	39 (79 6)	strong	27 (55.0)
female	10 (20 4)	p-Akt expression (%)	
Tumor size (cm, range)	3 1 (1 5-7 5)	weak	30 (61 2)
Primary lesion (%)		strong	19 (38 8)
solitary	31 (63 3)	p-mTOR expression (%)	
multiple	18 (36 7)	weak	28 (57.1)
Tumor configuration (%)		strong	21 (42 9)
papillary	25 (51 0)	p-p70S6K (%)	
solid	24 (49.0)	weak	26 (53 1)
Pathological stage (%)		strong	23 (46 9)
pT2	27 (55 1)	p-4E-BP1 expression (%)	
pT3	20 (40 8)	weak	28 (57 1)
pT4	2 (4.1)	strong	21 (42 9)
Accompanying CIS (%)			
negative	34 (69 4)		
positive	15 (30 6)		
Microvascular invasion (%)			
negative	28 (57 1)		
positive	21 (42 9)		
Lymph node involvement (%)			
pN0	33 (67 3)		
pN1	12 (28 6)		
pN2	2 (4 1)		

CIS, carcinoma in situ, p-, phosphorylated, mTOR, mammalian target of rapamycin, p70S6K, p70 ribosomal S6 kinase, 4E-BP1, 4E-binding protein 1

下に示すように、観察期間の中央値は 28.6 カ月であり、その 5 年 recurrence-free survival rate は 37.4%であった。



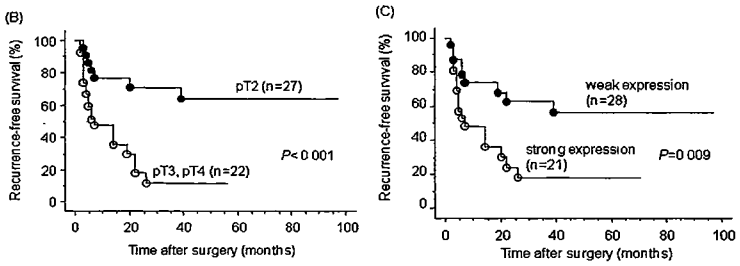
つぎに上に示した臨床病理学的因子および摘除標本における mTOR 経路構成分子の発現の強弱が根治的膀胱全摘出術を施行された浸潤性膀胱癌患者の予後に及ぼす影響を Cox 比例ハザードモデルを用い検討した。次表で示す通り、多変量解析おいて pathological T stage とともに p-4E-BP1 の発現レベルが無再発生存期間の独立した予後予測因子として同定された。

Table2 Univariate and multivariate analyses of various parameters as predictors of recurrence-free survival in 49 patients with muscle-invasive bladder cancer who underwent radical cystectomy

Variables	No of patients (No of patients with disease recurrence)	Univariate analysis			Multivariate analysis		
		HR	95% CI	*P* Value	HR	95% CI	*P* Value
Age (years) (< 70 vs. 70 ≤)	19 (8) vs 30 (19)	1.52	0 80-3 25	0 28	–	–	–
Gender (male vs female)	39 (21) vs 10 (6)	0 94	0 35-2 17	0 92	–	–	–
Tumor size (cm) (< 3 0 vs 3 0 ≤)	20 (9) vs 29 (18)	1 59	0 68-3 12	0 27	–	–	–
Primary lesion (solitary vs multiple)	31 (16) vs 18 (11)	1.38	0 64-2 93	0.37	–	–	–
Tumor configuration (papillary vs solid)	25 (14) vs 24 (13)	1.23	0 60-2 82	0.57	–	–	–
Pathological stage (pT2 vs pT3, pT4)	27 (7) vs 22 (17)	4.76	2.33-6 84	0 005	3 46	1 36-7 87	0 017
Accompanying CIS (negative vs positive)	34 (20) vs 15 (7)	0 53	0 33-1 19	0 13	–	–	–
Microvascular invasion (negative vs. positive)	28 (12) vs 21 (15)	1 49	0 36-2 46	0 67	–	–	–
Lymph node involvement (negative vs positive)	33 (15) vs 16 (12)	2 12	1.06-4.90	0 048	1 12	0 30-1 49	0 78
PTEN (weak vs strong expression)	22 (11) vs 27 (16)	0 82	0.43-1.96	0 57	–	–	–
p-Akt (weak vs. strong expression)	19 (10) vs 30 (17)	1 14	0.42-1 98	0 63	–	–	–
p-mTOR (weak vs strong expression)	28 (15) vs 21 (12)	1 72	0 44-2 07	0 14	–	–	–
p-p70S6K (weak vs. strong expression)	26 (16) vs 23 (11)	1.13	0 31-1 47	0.78	–	–	–
p-4E-BP1 (weak vs strong expression)	28 (11) vs 21 (16)	3.12	1 22-6 25	0.010	2 46	1.18-4 62	0.045

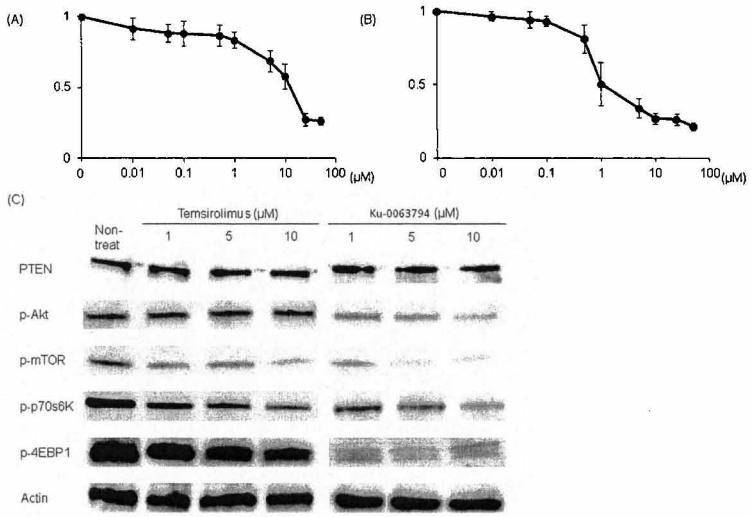
CIS, carcinoma in situ, p-, phosphorylated, mTOR, mammalian target of rapamycin, p70S6K, p70 ribosomal S6 kinase, 4E-BP1, 4E-binding protein 1; HR, hazard ratio, CI, confidence intervals

下は Kaplan–Meier を用いた (B) pathological T stage および (C) p-4E-BP1 ごとの生存曲線であり 2 群間を log-rank 検定を用いて検定したところ、いずれも有意な差を認めた。



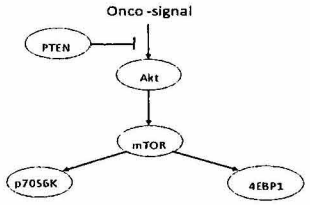
つぎにヒト浸潤性膀胱癌モデル KoTCC-1 を用い、mTOR 阻害剤に対する感受性を検討した。temsirolimus は mTOR complex（C）1 の特異的阻害剤であることが知られている。本研究では mTORC1 および C2 をともに阻害する Dual mTOR 阻害剤である Ku-0063794 を比較対象として用いた。

Fig.2



上に示す通り、両薬剤とも濃度依存的に抗腫瘍効果の増強が認められた。両薬剤はいずれも濃度依存的に p-mTOR および p-p70s6K の発現を減少させたが PTEN の発現を変化させなかった。両薬剤の治療においては p-Akt および p-4EBP1 の発現レベルに差を認めた。p-Akt は temsirolimus 治療下では差を生じなかったものの、Ku-0063794 は p-Akt の発現レベルを濃度依存的に抑制した。また temsirolimus と比べて Ku-0063794 はより効果的に p-4E-BP1 の発現を抑制した。更に両薬剤の抗腫瘍効果は p-4E-BP1 の発現レベルに比例していた（temsirolimus は 10uM でも p-4E-BP1 の発現は抑制せず、また同濃度では IC_{50} に達しない。一方 Ku-0063794 は 1uM から効果的に効果的に p-4E-BP1 の発現を抑制し、その濃度で IC_{50} に達する）。

【考察】浸潤性膀胱癌の悪性度の高さ、および進行膀胱癌の不良な予後を考慮すると、その進展に関わる因子を同定し、治療標的になり得るかを検討する事は、本疾患患者の予後を改善するために重要なことと考えられる。
本研究では癌の進展に関与する重要なシグナル経路の内、Akt/mTOR 経路を構成する分子に注目した。本研究で注目した分子経路の略図を以下に示す。



本研究では 4E-BP1 のリン酸化の程度が浸潤性膀胱癌患者の予後を独立して規定するだけではなく mTOR 阻害剤への感受性を規定している可能性が示された。このことは上図の関連を考慮すると奇妙な結果と思われる。なぜなら 4E-BP1 は p70s6K とともに mTOR の直接の下流に位置する分子であり、通常は PTEN、Akt および mTOR といった上流に位置する分子より、重要な役割を果たすことは少ないと考えられるからである。

しかし近年、4E-BP1 の funneling function、つまり 4E-BP1 は上流の他の MAPK や ATM といった他の上流シグナルとも密接に関連し、その上流のシグナルを統合し c-Myc, Fas, FGF といったより下流に位置し、癌の進展に関与する分子を制御している可能性が示されており、本研究の結果も間接的に上記の説を捕捉するものと考えられる。この理由から mTOR の下流に位置しながらも、今回検索し得た分子の内、浸潤性膀胱癌術後の予後を独立して予測しうる分子として、唯一同定されものと考えられる。

また本研究では既存の temsirolimus と Ku-0063794 の浸潤性膀胱癌株 KoTCC-1 に対する感受性及び治療下での各分子の発現を検討した。結果、p-4E-BP1 の発現レベルが mTOR 阻害剤の抗癌作用を規定していた。このことは上述の理由に加え、p-4E-BP1 の発現レベルの効果的な抑制には mTORC1 の抑制のみではなく、Ku-0063794 による mTORC1 および C2 の抑制が必要であるということから、この点においても 4E-BP1 の典型的な funneling function の可能性を示唆するものと考える。

【結論】4E-BP1 のリン酸化は浸潤性膀胱癌患者の術後再発に関わるとともに、mTOR 阻害剤への感受性を規定する可能性が示唆された。

神戸大学大学院医学(系)研究科(博士課程)

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2491号	氏　名	西川　昌友
論文題目 Title of Dissertation	Significance of 4E-binding protein 1 as a therapeutic target for invasive urothelial carcinoma of the bladder 浸潤性膀胱癌治療標的としての 4E-binding protein 1 の重要性		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 副　査 Vice-examiner 副　査 Vice-examiner	眞庭謙昌 林地哲弘 南博信	

(要旨は1，000字～2，000字程度)

浸潤性膀胱癌は根治的治療として根治的膀胱全摘出術が施行し得たとしても、患者の内半数近くが再発する。また進行膀胱癌に対する化学療法は、シスプラチンを基準としたレジメンが 1980 年代に開発され生存率の関与に寄与した。以降細かなレジメンの改良はあったものの現在に至るまで大きな変化はなく、一旦再発すればその予後は極めて不良である。結果として全世界で年間膀胱癌による死亡は年間 150000 人を超える。つまり浸潤性膀胱癌は非常に悪性度が高く、従来の治療には限界があり、浸潤性膀胱癌の進展と関連する分子生物学的特徴を探求し、進行症例に対する最適な治療戦略の確立を目指すことは重要と考えられる。

Akt/mTOR (mammalian target of rapamycin) 経路は近年、増殖・分化・代謝を制御し、様ざまな癌腫の進展において重要な役割を担うことが解明されてきた。泌尿器科領域においても、転移性腎細胞癌の薬物治療領域では mTOR 経路を標的とした mTOR 阻害剤である temsirolimus, everolimus の登場により、転移性腎細胞癌患者の予後は劇的に改善した。しかし膀胱癌においても同様にその活性化が癌の進展に関与すると考えられているものの、詳細は未だ不明である。

本研究では Akt/mTOR 経路を構成する主要な 5 分子、PTEN、リン酸化（p-）Akt、p-mTOR、p-p70s6K および p-4E-BP1 の摘出標本における発現レベルを免疫組織学的に評価し、その発現レベルが根治的膀胱全摘出術を施行された浸潤性膀胱癌患者の予後に及ぼす影響の検討を第一の目標とした。つぎにヒト浸潤性膀胱癌モデル KoTCC-1 を用い、temsirolimus に対する感受性を検討し、治療下での mTOR 経路の構成分子の発現レベルの変化を検討した。

その結果、4E-BP1 のリン酸化の程度が浸潤性膀胱癌患者の予後を独立して規定するだけではなく mTOR 阻害剤への感受性を規定している可能性が示された。近年、4E-BP1 の funneling function、つまり 4E-BP1 は上流の他の MAPK や ATM といった他の上流シグナルとも密接に関連し、その上流のシグナルを統合し c-Myc, Fas, FGF といったより下流に位置し、癌の進展に関与する分子を制御している可能性が示されており、本研究の結果も間接的に本説を捕捉するものと考えられる。この理由から mTOR の下流に位置しながらも、今回検索し得た分子の内、浸潤性膀胱癌術後の予後を独立して予測しうる分子として、唯一同定されものと考えられた。

また、本研究では既存の temsirolimus と Ku-0063794 の浸潤性膀胱癌株 KoTCC-1 に対する感受性及び治療下での各分子の発現を検討した。結果、p-4E-BP1 の発現レベルが mTOR 阻害剤の抗癌作用を規定していた。このことは上述の理由に加え、p-4E-BP1 の発現レベルの効果的な抑制には mTORC1 の抑制のみではなく、Ku-0063794 による mTORC1 および C2 の抑制が必要であるということから、この点においても 4E-BP1 の

典型的な funneling function の可能性を示唆するものと考える。4E-BP1 のリン酸化は浸潤性膀胱癌患者の術後再発に関わるとともに、mTOR 阻害剤への感受性を規定する可能性が示唆された。

本研究は、浸潤性膀胱癌について、新規抗癌剤の有効性とそのメカニズムを研究したものであるが、従来ほとんど行われなかったシグナル伝達経路に基づいた作用機序について重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究は、博士（医学）の学位を取る資格があると認める。