

京都大学	博士（医学）	氏名	村上 薫
論文題目	Antitumor effect of WEE1 blockade as monotherapy or in combination with cisplatin in urothelial cancer (WEE1 阻害は尿路上皮癌において単独あるいはシスプラチンとの併用で抗腫瘍効果を示す)		
(論文内容の要旨)			
<p>切除不能または転移性膀胱癌の薬物治療の中心はシスプラチンを基本とした化学療法であるが、早期に薬剤耐性を来すためシスプラチン耐性の克服は尿路上皮癌治療における重要な課題となっている。WEE1 は細胞周期の G2/M 期のチェックポイント分子でありこれまで種々の癌種において有効な治療ターゲットとなることが報告されてきたが、尿路上皮癌に対する WEE1 阻害の有効性は報告されていないため尿路上皮癌に対する WEE1 阻害の有効性とシスプラチンとの併用効果について検討した。</p> <p>シスプラチンを含む化学療法が施行された 34 例の筋層浸潤膀胱癌の免疫染色において、化学療法前の 28 例(82%)、化学療法後の 20 例(69%)と高率な WEE1 発現を認めた。また化学療法後の WEE1 と p53 の発現に有意な相関を認め、WEE1 発現と尿路上皮癌において最も高頻度にみられる TP53 変異の関連が示唆された。WEE1 阻害薬である MK-1775 (または AZD-1775) は、尿路上皮癌細胞において TP53 変異の有無に関わらず、用量依存的な細胞増殖抑制効果を示した。また、TP53 変異型の尿路上皮癌細胞株において MK-1775 はシスプラチンとの相乗効果を示し(Combination Index; CI<1)、アポトーシスを誘導することをフローサイトメトリーとウェスタンブロットによって明らかにした。さらに MK-1775 とシスプラチンの併用で M 期に特有の細胞死である分裂死 (Mitotic catastrophe) が強力に誘導された。TP53 変異型の尿路上皮癌細胞である UMUC3 由来ゼノグラフト(CDX)、および MDM2 過剰発現のある患者由来ゼノグラフト(PDX)の 2 系統においては、p53 を介した細胞周期経路が不活化されており、AZD-1775 (60 mg/kg)はシスプラチンとの併用で有意に腫瘍増殖を抑制した。また これらの CDX および PDX の腫瘍組織では、AZD-1775 (60 mg/kg) はシスプラチンと併用することにより細胞周期 M 期への進入がみられることを Phospho-Histone H3 染色により示し、TUNEL assay によりアポトーシスが誘導されることを示した。一方 TP53 野生型の尿路上皮癌細胞である RT4 由来ゼノグラフトでは AZD-1775 単剤投与 (90 mg/kg)で良好な腫瘍増殖抑制効果を認めた一方で、AZD1775(60 mg/kg)とシスプラチンの併用効果はみられなかった。経尿道的切除術により得られた尿路上皮癌組織由来スフェロイド(Cancer-Tissue Originated Spheroid: CTOS)を用いた薬剤感受性試験では、MK-1775 単剤またはシスプラチンとの併用効果はゼノグラフトモデルにおける効果と相関しており、CTOS を用いた薬剤感受性試験の有効性が示唆された。</p> <p>現在、WEE1 特異的阻害薬は種々の癌治療における臨床試験の初期段階にあり、尿路上皮癌においても有望な治療標的となることが期待される。また、WEE1 阻害単独あるいはシスプラチンとの併用の有効性の違いは p53 を介した細胞周期活性により変化するが、CTOS などの三次元初期培養系を用いて効果予測を行うことが可能と考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

筋層浸潤性膀胱癌の薬物治療の中心はシスプラチンを用いた化学療法であるが、早期に薬剤耐性を来し、免疫チェックポイント阻害薬の効果も限定的であるため、尿路上皮癌における有効な治療ターゲットの同定は重要な課題である。

申請者は、まず細胞周期 G2/M 期のチェックポイント分子である WEE1 が筋層浸潤性膀胱癌において高率に発現していることを確認した。TP53 変異型ヒト膀胱癌細胞株に対して、WEE1 阻害薬はシスプラチンとの相乗効果を認め、併用時にはアポトーシスおよび分裂期崩壊が単剤投与時よりも誘導されることを示した。さらにヒト膀胱癌細胞株皮下移植マウスモデルおよび患者由来腫瘍組織移植(PDX)マウスモデルでも TP53 変異型もしくは p53-p21 細胞周期チェックポイント経路異常が見られたモデルでは、シスプラチン+WEE1 阻害薬併用投与が単剤投与よりも有意な増殖抑制効果を示した。PDX マウスモデルおよび PDX 腫瘍から作製した Cancer-tissue originated spheroid (CTOS)のいずれにおいても、シスプラチンと WEE1 阻害薬の併用効果を認めた。手術検体から樹立した CTOS いずれにおいても WEE1 阻害薬の併用効果を確認した。

以上の研究は尿路上皮癌治療における WEE1 阻害の有効性の機序解明に貢献し有望な新規治療標的の同定に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 4 年 5 月 20 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。