

氏 名	わた なべ じゅん 渡 部 淳
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3234 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Clinical significance of p53 mutation analysis for prediction of chemosensitivity in urothelial carcinoma (尿路上皮癌の化学療法感受性予測における p53 癌抑制遺伝子変異解析の臨床的意義に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 前 川 平 教 授 小 西 郁 生 教 授 福 島 雅 典

論 文 内 容 の 要 旨

腎盂、尿管、膀胱の上皮より発生する尿路上皮癌は、前立腺癌について頻度が高い泌尿器科癌である。尿路上皮癌は浸潤性癌となると、約半数の症例で遠隔転移を来とし、治療としては外科的切除とともに **Cisplatin** を主体とする多剤併用化学療法が施行される。一方、浸潤性尿路上皮癌の約半数以上の症例では、細胞周期や細胞死の制御に重要な **p53** に変異が認められる。このため、尿路上皮癌において化学療法感受性と **p53** との関連を明らかにすることは、薬剤耐性機序の解明とともに新規治療法の開発に重要である。そこで今回、尿路上皮癌の化学療法感受性と **p53** の状態との関連性を明らかにするとともに、**p53** 経路を標的とした新規治療法の可能性について検討した。

まず、多剤併用化学療法を術前補助化学療法として施行した尿路上皮癌 13 症例を対象とし、**P53** の変異の有無は、**FASAY** 法 (functional analysis of separated allele of **p53** on yeast) およびシーケンス法により検討した。**P53** の変異率は、化学療法に対し感受性を示した症例では 7 例中 6 例 (86%) であったのに対し、化学療法無効症例 6 例中 2 例 (33%) であった。このことは、野生型 **p53** は尿路上皮癌においては **Cisplatin** を主体とする多剤併用化学療法の耐性機序に関与すると考えられた。

そこで次に、**dicoumarol** が **p53** 蛋白分解亢進作用を有することに着目し、野生型 **p53** を標的とした **dicoumarol** と **cisplatin** との併用療法の可能性を検討した。尿路上皮癌細胞株としては、野生型 **p53** を有する 2 細胞株 (**RT112**、**253J**) と変異型を有する 2 細胞株 (**J82**、**UMUC3**) を用い、感受性は **MTT** 法にて検討した。**dicoumarol** は、野生型 **p53** 株群においてのみ **Cisplatin** に対する感受性を亢進させた。また、野生型 **p53** 細胞株に **dominant-negative** 型 **p53** を強制発現させたところ、この相乗効果は消失した。一方、**p53** の下流の **p21** を **siRNA** にて抑制したところ、**Cisplatin** 感受性は増強された。これらの結果は **dicoumarol** が **p53-p21** 経路を介して **cisplatin** 感受性を増強することを示している。一方、**MAPK** 経路を検討したところ、**dicoumarol** と **cisplatin** の併用時には、**p21** 抑制の後に **c-Jun N-terminal kinase (JNK)** 経路の活性化と **caspase** の活性化、アポトーシスの亢進を認めた。さらに、この野生型 **p53** 細胞株における **dicoumarol** と **Cisplatin** の併用時に観察される著しいアポトーシスの亢進は、**JNK** 阻害剤の併用によりあきらかに抑制された。またこの **Cisplatin** 増感作用は野生型 **p53** を有する前立腺癌細胞株でも確認されたが、正常尿路上皮細胞初期培養細胞では認められず、癌特異的な現象である可能性が示唆された。

以上より **p53** 変異の同定は尿路上皮癌の **Cisplatin** 感受性の予測に有用である。野生型 **p53** を有する尿路上皮癌細胞株に対しては、**dicoumarol** が **p53-p21-JNK** 経路を標的として **cisplatin** 感受性を亢進することが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

進行性尿路上皮癌では、標準治療として **cisplatin** を主体とする多剤併用化学療法が施行されるが、その有効性は症例によって異なる。いっぽう進行性尿路上皮癌では、細胞死の制御に重要な **p53** 癌抑制遺伝子の変異が高頻度に認められるため、

尿路上皮癌において化学療法感受性と p53 変異との関連を明らかにすることは臨床重要である。本研究では、尿路上皮癌の化学療法感受性と p53 変異の関連性を臨床検体を用いて検討し、また同分子を標的とした新規治療法の可能性について細胞実験による検討を行なっている。

まず、術前化学療法を施行した尿路上皮癌症例を対象とし、p53 蛋白の機能アッセイ法である EASAY 法を用いて、p53 変異の有無を検討した。この結果、p53 変異の無い症例において化学療法不応例が多く、野性型 p53 の機能が cisplatin 抵抗性に関与する可能性が示唆された。次に、p53 野性型癌細胞株を用い、p53 活性抑制作用をもつ薬剤 dicoumarol が cisplatin の JNK 依存性細胞毒性を増強することを見いだした。これらの結果より p53 野性型尿路上皮癌に対しては、dicoumarol と cisplatin 併用療法が有効である可能性が示された。

以上の研究は、尿路上皮癌の化学療法感受性における p53 の分子マーカーとしての有用性の解明、あるいは分子標的治療法の開発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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 27 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。