

Title	High-dose chemotherapeutics of intravesical chemotherapy rapidly induce mitochondrial dysfunction in bladder cancer-derived spheroids
Author(s)	吉田, 栄宏
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51908
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	吉田 栄宏
論文題名 Title	High-dose chemotherapeutics of intravesical chemotherapy rapidly induce mitochondrial dysfunction in bladder cancer-derived spheroids (膀胱内注入化学療法に用いられる高濃度の抗癌剤は、膀胱癌由来スフェロイドのミトコンドリア機能を急速に阻害する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>筋層非浸潤性膀胱癌 (non-muscle invasive bladder cancer: NMIBC) は膀胱癌患者の約80%を占める。経尿道的切除 (transurethral resection: TUR) により治癒可能で、5年生存率は約90%と良好である。しかし膀胱腔内再発率は40-80%と高く、また約10%の症例では予後不良な浸潤性膀胱癌に進展する。そのため再発予防を目的としたTUR直後の抗癌剤膀胱内注入療法 (intravesical chemotherapy: IVC) が標準治療として推奨されている。IVCは複数の無作為比較試験において再発リスクを10-20%低下する。IVCの作用機序は、高濃度のepirubicinやmitomycin Cを膀胱内に保持することで、TUR後の膀胱腔内に浮遊している癌細胞を抗癌剤に曝露し、膀胱壁へのimplantationを抑制することによって考えられている。したがって膀胱内注入療法では全身化学療法とは異なり、高濃度の抗癌剤が直接癌細胞に曝露する。しかしこれまでに、高濃度の抗癌剤が曝露した際の膀胱癌細胞の反応について詳細に調べた報告はない。そこで本研究では、膀胱癌細胞に対する高濃度の抗癌剤の殺細胞機序について検討した。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>方法：まず手術で得られたヒト膀胱癌検体をSCIDマウス皮下に移植し、継代可能なマウス皮下腫瘍を樹立した。皮下腫瘍から、新たに開発したスフェロイドによる癌細胞培養法 (CTOS法) (Kondo 2010 PNAS, Okuyama 2013 J Urol) を用いて、膀胱癌細胞で構成されるスフェロイドを調製した。スフェロイドに抗癌剤2剤 (epirubicinとmitomycin C) を曝露した。曝露方法は臨床における膀胱内注入療法に合わせて、1mg/mlの濃度で2時間とした。また全身化学療法において想定される0.01mg/mlを通常濃度として曝露し、反応を比較検討した。まず抗癌剤を曝露した際の細胞内への取り込みを検討した。続いて細胞死に関連する実験 (細胞外膜の破綻、ミトコンドリア膜電位の測定、ミトコンドリアの形態の観察、細胞内ATP値の変動、DNAの断片化、caspaseの活性化など) を行った。さらにヒト膀胱癌手術検体19例より直接CTOS法にてスフェロイドを調製し、高濃度抗癌剤曝露の際の反応について検討した。</p>	
<p>成績：癌細胞への抗癌剤の取り込みは急速かつ一様であった。高濃度の抗癌剤曝露後2時間では細胞膜は破綻しておらず、48時間経過すると全ての細胞膜が破綻した。抗癌剤曝露2時間でミトコンドリア膜電位の低下とミトコンドリアの膨化が観察された。ミトコンドリアの機能障害に伴い、細胞内ATP値は急速に約20%まで低下した。抗癌剤曝露2時間でPARPの分割および活性化caspase3、8、9が確認されたが、DNAは断片化しなかった。一方で通常濃度の抗癌剤を曝露するとDNAは断片化した。また、手術検体より調製した膀胱癌初代培養スフェロイドに高濃度の抗癌剤を曝露しATP値を測定したところ、腫瘍間でのばらつきを確認した。また、2剤の抗癌剤で曝露後のATP値に大きな差がある腫瘍を確認した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>全身投与で使用される通常濃度の抗癌剤が典型的なアポトーシスを誘導したのに対し、高濃度の抗癌剤はネクローシスによる細胞死を誘導した。新たに同定した細胞死の機序をさらに解明することで、より効果的な薬剤や治療戦略の開発が期待される。また、臨床検体から調製した癌細胞に抗癌剤を曝露するとATP値の低下が大きくばらついたことから、癌細胞の高濃度抗癌剤への感受性に差異が存在することが示唆された。今後、抗癌剤膀胱内注入療法におけるテーラード医療化への応用が期待される。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 吉田 栄宏

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 野々村 祝夫
	副 査	大阪大学教授 木村 正
	副 査	大阪大学教授 土岐 祐一郎

論文審査の結果の要旨

筋層非浸潤性膀胱癌は切除後の再発予防目的に、抗癌剤膀胱内注入療法が推奨される。しかしその作用機序は明らかではない。本研究では膀胱癌細胞に対する高濃度の抗癌剤の殺細胞機序について検討した。ヒト膀胱癌由来マウス皮下腫瘍より調製した癌細胞スフェロイドに高濃度抗癌剤を2時間曝露すると、細胞内ATP値の低下を伴うミトコンドリア機能障害が観察された。活性化caspase3、8、9も確認されたが、DNAは断片化しなかった。一方で通常濃度の抗癌剤を曝露するとDNAは断片化した。以上から高濃度の抗癌剤はアポトーシスとは異なる細胞死を誘導した。新たに同定した細胞死の機序をさらに解明することで、より効果的な薬剤や治療戦略の開発が期待される。また手術検体より調製した膀胱癌初代培養スフェロイドに高濃度の抗癌剤を曝露しATP値を測定したところ、腫瘍間でのばらつきを確認した。以上から癌細胞の高濃度抗癌剤への感受性に差異が存在することが示唆された。今後、抗癌剤膀胱内注入療法におけるテーラーメイド医療化への応用が期待される。審査の結果、上記の報告は学位に値するものと認める。