

氏 名 花田 英紀

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 博士乙第 446 号

学位授与の要件 学位規則第 4 条第 2 項

学位授与年月日 令和元年 9 月 11 日

学位論文題目 Pro-GA, a Novel Inhibitor of  $\gamma$ -  
Glutamylcyclotransferase, Suppresses Human Bladder  
Cancer Cell Growth

(新規  $\gamma$ -グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤 pro-  
GA によるヒト膀胱癌細胞増殖抑制)

審査委員 主査 教授 杉原 洋行

副査 教授 縣 保年

副査 教授 今井 晋二

## 論文内容要旨

※整理番号	450	(ふりがな) 氏名	はなだ えいき 花田 英紀
学位論文題目	<p>“Pro-GA, a Novel Inhibitor of <math>\gamma</math>-Glutamylcyclotransferase, Suppresses Human Bladder Cancer Cell Growth”          (新規<math>\gamma</math>-グルタミルシクロトランスフェラーゼ阻害剤 pro-GA によるヒト膀胱癌細胞増殖抑制)</p>		
<p>膀胱癌は筋層非浸潤性膀胱癌と筋層浸潤性膀胱癌に分けられ、前者では通常 TUR-BT (経尿道的膀胱腫瘍切除術)による膀胱温存治療が初期治療として施行されている。治療上の最大の問題点は、初期治療後、高頻度に再発すること、ならびに再発した腫瘍の一部が浸潤癌へと進展することであり、これらを可能な限り抑制することが非常に重要である。現在、不完全切除例に対する治療目的あるいは完全切除例に対する膀胱内再発予防目的で、術後に抗癌剤や BCG の膀胱内注入療法が施行されているが、これらは TUR-BT 後の非再発率の改善には大きく貢献するものの、浸潤癌への進展防止にはほとんど効果がなく限定的なものである。よって臨床の場において革新的な治療薬の開発が望まれている。今回、われわれは <math>\gamma</math>-Glutamylcyclotransferase (GGCT)を治療標的とした膀胱癌治療を研究対象とした。GGCT はグルタチオン代謝に含まれるメジャーなエンザイムの一つであり、広い癌種に高発現していることが報告されていることから様々な癌種において有望な治療標的になると考えられている。その作用機序は十分に明らかにされていないが、癌細胞の増殖や浸潤、転移などに関与しているものと考えられている。</p> <p>【目的】本研究では TUR-BT で得られた膀胱癌組織における GGCT の発現について評価を行った。また膀胱癌細胞において GGCT 阻害による細胞増殖抑制効果を観察し、膀胱内注入療法で使用されている既存の抗癌剤である mitomycin C (MMC)と我々の研究グループが開発した GGCT 阻害剤の pro-GA との併用による細胞増殖抑制効果について検討することを目的とした。</p> <p>【方法】TUR-BT で得られた 130 例の筋層非浸潤性膀胱癌組織における GGCT の発現程度について免疫組織学的に検討を行った。GGCT の発現程度と悪性度、深達度、再発率などとの関連性について検討を行った。膀胱癌細胞における GGCT の発現の検討を行い、GGCT 阻害剤による細胞増殖抑制効果を評価した。また、MMC との併用による細胞増殖抑制効果について評価を行った。</p> <p>【結果】130 例の膀胱癌組織のうち程度に差はあるものの 80%以上に GGCT の高発現が観察された。膀胱癌細胞では GGCT が高発現しており、GGCT 阻害剤 pro-GA により、膀胱癌</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。  
 2. ※印の欄には記入しないこと。

(続紙)

細胞の増殖が著しく抑制された。pro-GA と MMC との併用による細胞増殖抑制効果の検討では、MMC 処置後に pro-GA を加えることで、MMC 単独投与による細胞増殖抑制効果を上回る結果であった。Pro-GA 投与後に MMC 処置を行っても同様の結果であった。

【考察】GGCT は広い癌種において有望な治療標的である。GGCT はグルタチオン代謝に含まれるメジャーなエンザイムの一つであり、広い癌種に高発現していることが報告されている。その作用機序はまだ明らかにされていないが、正常細胞に GGCT を発現させても悪性転化を認めなかったことから、GGCT は癌化に直接的な関与はしていないものと推測されている。いくつかの癌細胞株において GGCT 発現抑制による細胞増殖抑制効果を示し、正常ヒト繊維芽細胞では細胞増殖抑制効果を認めなかったことを報告している。GGCT の発現を抑制することで癌細胞の増殖や浸潤、転移などを抑制することが示唆されており、担癌異種移植マウスにおいて抗癌作用が得られたことも報告されている。本研究では TUR-BT 標本における GGCT の発現について検討を行い、GGCT が膀胱癌で程度の差はあるものの 80%以上に GGCT の発現を認めた。また、半数以上が高度に発現していた。一方、無発現は深達度 Ta の 98 例中 13 例、13%で深達度 T1 の 32 例中 5 例、16%で共に少数であった。よって、多数の膀胱癌症例において抗 GGCT 治療の感受性が見込まれるものと思われた。免疫組織化学上の GGCT 発現程度による定性的分類では Ta においては有意差がないものの GGCT 高発現群で再発率が高い傾向であった。一方、T1 においては非再発率に差を認めなかった。この理由として、術後再発予防治療として施行した膀胱内注入療法による影響が大きいと考えている。実際に T1 群では 32 例中 24 例の 75%で治療を行っており、Ta 群の 98 例中 34 例の 34%と比べて大きな差が見られた。本研究では pro-GA と MMC との併用による細胞増殖抑制効果を検討し、それぞれの単独投与と比較して併用により効果が増強されることを確認した。併用投与により効果が増強する正確な機序は現在のところ不明である。GGCT は  $\gamma$ -グルタミル回路の主要酵素であり、この回路はグルタチオン代謝をコントロールすることで細胞の抗ストレス性を維持していると考えられていることから、GGCT 阻害により MMC 先行投与による細胞ストレスへの抵抗性が減弱されたためではないかと推測している。

【結論】本研究において膀胱癌では高率に GGCT の発現が認められ、GGCT を阻害標的とした治療が有効である可能性が示唆された。我々の研究グループが開発した新規 GGCT 阻害剤 pro-GA は膀胱癌細胞の増殖を著しく抑制したことが証明された。また、MMC との併用で細胞増殖抑制効果の増強を示したことより、GGCT を阻害標的とした治療が既存抗癌剤との併用により有効性を向上させる可能性があると考えられた。本研究は膀胱癌細胞を対象として GGCT 阻害剤である pro-GA による細胞増殖抑制効果を示した初めての研究である。また、既存抗癌剤との併用により細胞増殖抑制効果を高めることを示した初めての研究である。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	450	氏名	花田 英紀
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>筋層非浸潤性膀胱癌では、経尿道的切除 (TUR) 後の高頻度の再発に対して、TUR 後の BCG や MMC の膀胱内注入療法が一定の再発予防効果をあげているが、更に効果的な治療が求められている。本論文では、新たな治療法として注目されている <math>\gamma</math>-グルタミルシクロトランスフェラーゼ (GGCT) に対する分子標的治療の膀胱癌に対する効果について検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1) 筋層非浸潤性膀胱癌の TUR 検体では、免疫組織化学により高率に GGCT の発現がみられ、GGCT は治療標的となり得ると考えられたが、高発現群と低発現群との間に再発率に有意差は無かった。</li><li>2) GGCT に対する siRNA によるノックダウン、およびこの研究グループで開発された pro-GA による GGCT の酵素活性の阻害は、膀胱癌細胞の増殖を有意に抑制した。</li><li>3) pro-GA と MMC の併用により、それぞれの単独投与に比べ、癌細胞の増殖抑制効果の有意な増強がみられた。</li></ol> <p>本論文は、膀胱癌の分子標的治療について新たな知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 509 字)</p> <p style="text-align: right;">(令和 1 年 8 月 27 日)</p>			