

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：24303

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15585

研究課題名(和文) 去勢抵抗性前立腺癌進展におけるヒストン修飾酵素の関与とその治療への応用

研究課題名(英文) Association of histone modification enzyme in the progression of castrate resistant prostate cancer

研究代表者

白石 匠 (SHIRAIISHI, TAKUMI)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・客員講師

研究者番号：70405314

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：アンドロゲン除去療法(ADT)開始直後のアンドロゲン欠乏下で、ヒストン修飾酵素の一つであるJARID1Bの発現が上昇することを見出した。実際にJARID1Bは、転移性前立腺癌、限局性前立腺癌の順で、正常前立腺組織よりも発現が上昇していた。さらに、このJARID1Bの発現は、mRNAの3' UTR領域の2か所の部位を介して、microRNA-29aによるその発現が制御されていることを見出した。以上の結果より、アンドロゲンを除去した状況で細胞を培養すると、JARID1Bの発現が上昇し、その機序としてmicroRNA-29aが関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that JARID1B was induced under androgen depleted condition. JARID1B was up-regulated in cancer specimens, especially in metastatic cancer tissues from prostate cancer patients compared to normal prostate tissues. JARID1B knockdown increased 3meH3K4 and decrease cell proliferation in LNCaP cells. Furthermore, expression of JARID1B was controlled by microRNA-29a through two sites of 3' UTR region. These results suggest the possibility that JARID1B is associated with the survival of prostate cancer cells under androgen depleted condition. Further study is ongoing to evaluate the direct association of JARID1B with the development of castrate resistant prostate cancer under androgen depleted condition.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 アンドロゲン除去療法 ヒストン修飾酵素 JARID1B microRNA-29a

## 1. 研究開始当初の背景

アンドロゲン除去療法（ADT）は、依然転移を有する進行性前立腺癌に対する治療の根幹をなす治療として位置づけられている。しかしながら、その多くは数か月から数年以内に去勢抵抗性前立腺癌へと進展する。去勢抵抗性前立腺癌に対するドセタキセルを中心とした化学療法は一定の延命効果を認めるものの、十分な効果が期待できるとはいえない。新規ホルモン療法薬としてアピラテロンやエンザルタミドの使用が開始された現在でも、去勢抵抗性を獲得した前立腺癌に対する治療法には更なる研究が必要であるのが現状である。

現在までの多くの研究により、去勢抵抗性前立腺癌細胞の性質が明らかにされてきた。これら去勢抵抗性を獲得した前立腺癌細胞では、アンドロゲン欠乏下であるにもかかわらず、様々な機序によりアンドロゲンレセプターシグナルの増強がみられ、それらのシグナルがアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞の生存に寄与していることが報告されている。しかしながら、前立腺癌細胞がどのようにしてアンドロゲン除去直後にみられる著明なストレス状態を克服し、去勢抵抗性を獲得することができるのかという疑問に対して、現時点では明確な答えはない。

## 2. 研究の目的

本研究では、植物における水分欠乏状態と前立腺癌細胞におけるアンドロゲン欠乏状態におけるヒストン修飾状態の類似性に着目した。ADT時のヒストン修飾に関する因子を制御することにより、ADT後の去勢抵抗性前立腺癌への進展を防止することができると考えた。本研究の目的は、すでに去勢抵抗性を獲得した前立腺癌に対する新しい治療を開発するのではなく、ADT後の去勢抵抗性前立腺癌への進展を防ぐという、新しいアプローチで転移を有する進行性前立腺癌に対する治療戦略を開発することにある。

## 3. 研究の方法

(1) アンドロゲン依存性前立腺癌細胞である LNCaP 細胞を用いて、アンドロゲン除去時に JARID1B の発現が上昇することを確認

する。

(2) 正常前立腺組織、前立腺癌組織および転移性前立腺癌組織における JARID1B の発現を検討する。

(3) アンドロゲン除去時の JARID1B の発現上昇のメカニズムを microRNA に注目して検討する。

(4) アンドロゲン除去時の前立腺癌細胞の生存および去勢抵抗性の獲得に JARID1B が関与しているかどうかを、強制発現系およびノックダウン系を用いて確認する。

## 4. 研究成果

(1) まず、アンドロゲン依存性前立腺癌細胞である LNCaP 細胞において、培地よりアンドロゲンを除去した状況で細胞を培養すると、JARID1B (KDM5B) の発現が最も上昇することを、PCR アレイで確認した。さらに、JARID1B が蛋白レベルでも発現の上昇が認められること、およびグローバルなヒストン H3K4 のメチル化レベルが減少していることをウエスタンブロットおよびにより確認した (図 1)。

(2) 転移性前立腺癌、限局性前立腺癌および正常前立腺組織から抽出した mRNA を用いて real-time PCR で JARID1B の発現を比較した。その結果、転移性前立腺癌、限局性前立腺癌の順で、正常前立腺組織よりも発現が上昇していることを見出した (図 2)。

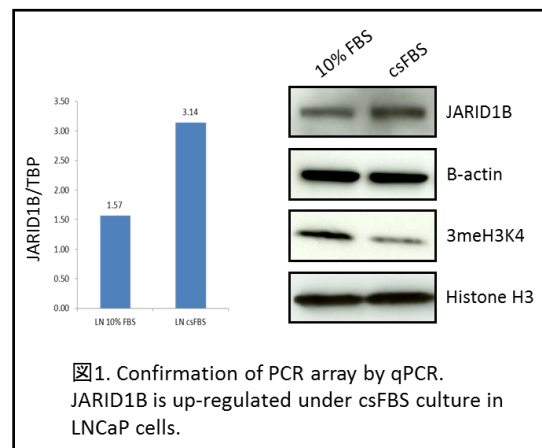
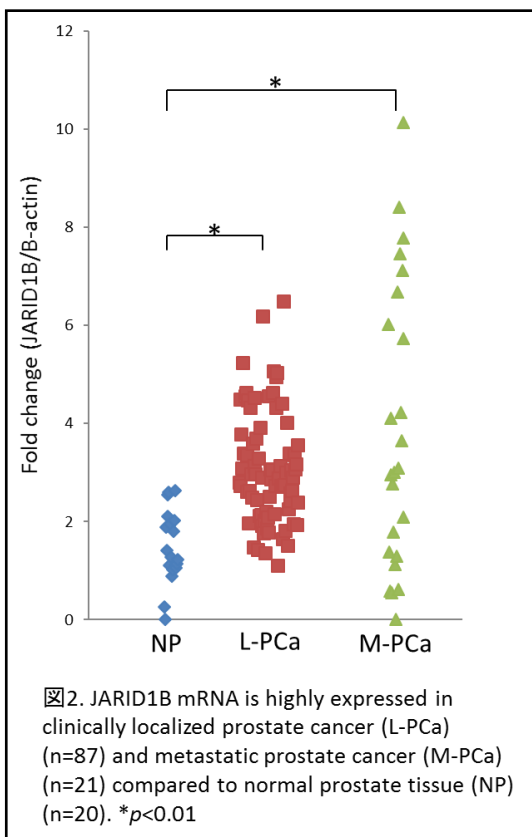


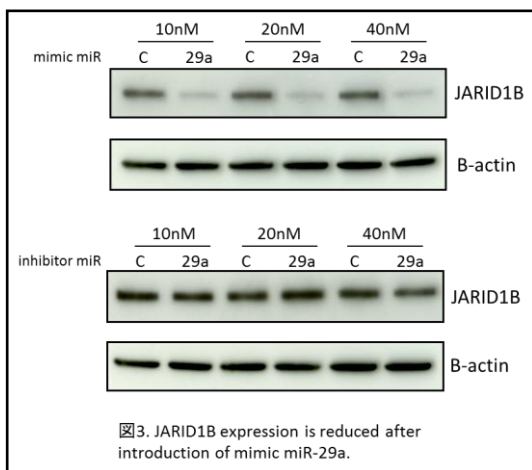
図1. Confirmation of PCR array by qPCR. JARID1B is up-regulated under csFBS culture in LNCaP cells.

(3) JARID1B の 3'UTR 領域には、microRNA-29a の結合部位があることを、



TargetScan を用いて見出した。実際に、microRNA-29a をトランスフェクションすると、JARID1B の発現は減少し、その現象は inhibitor を入れることで、減弱した (図 3)。

以上の結果より、アンドロゲンを除去した状況で細胞を培養すると、JARID1B の発現が上昇し、その機序として microRNA-29a が関与していることが示唆された。現在、ホルモン依存性前立腺細胞株におけるアンドロゲン除去時の細胞生存率への関与を検討するため、これらのノックダウン細胞株と強制発現細胞株の樹立を目指している。



## 5. 主な発表論文等

当研究の研究成果は現在データ蓄積中のため論文、学会発表はまだ行っていない。

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕  
○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

白石 匠 (SHIRAISHI, Takumi)

京都府立医科大学・医学研究科・客員講師

研究者番号：70405314

### (2) 研究分担者

沖原 宏治 (OKIHARA, Koji)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授

研究者番号：80285270

本郷 文弥 (HONGO, Fumiya)

京都府立医科大学・医学研究科・講師

研究者番号：80291798

中村 晃和 (NAKAMURA, Terukazu)

京都府立医科大学・医学研究科・客員教授

研究者番号：10381964

上田 崇 (UEDA, Takashi)

京都府立医科大学・医学研究科・客員講師  
研究者番号：50601598

上田 紗弥 (UEDA, Saya)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：90534511

三木 恒治 (MIKI, Tsuneharu)  
京都府立医科大学・医学研究科・特任教授  
研究者番号：10243239

浮村 理 (UKIMURA, Osamu)  
京都府立医科大学・医学研究科・教授  
研究者番号：70275220

大石 正勝 (OISHI, Masakatsu)  
京都府立医科大学・医学研究科・客員講師  
研究者番号：90405316

(3) 連携研究者  
該当なし

(4) 研究協力者  
該当なし