

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K21282

研究課題名(和文) ホルモン治療抵抗性前立腺癌のエピゲノム制御を介した網羅的増殖抑制メカニズムの探究

研究課題名(英文) Elucidation of epigenome-mediated mechanism for growth suppression in castration-resistant prostate cancer

研究代表者

佐藤 慎哉 (SATO, Shinya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：30464564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ホルモン治療に抵抗性の前立腺癌に対する治療法は限られており、新たな治療法が求められている。私達は、DNAの塩基配列を変えずに遺伝子の働きを変えるエピゲノム機構を利用したホルモン治療抵抗性前立腺癌の増殖抑制を目指した。エピゲノム機構を制御するHDAC阻害剤(OBP-801)をホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞に投与したところ、増殖抑制が確認された。さらにOBP-801は同じくエピゲノム機構を制御するマイクロRNA(miR-320a)の発現上昇を介して、前立腺癌の増殖に重要なアンドロゲン受容体の発現を抑制した。以上より、HDAC阻害剤はホルモン治療抵抗性前立腺癌に対する有望な治療薬と考える。

研究成果の概要(英文)：Targeting androgen receptor (AR) is one of the effective approaches for treatment of prostate cancers. Histone deacetylase (HDAC) alters the epigenetic status of tumor-associated genes, including those for miRNAs, and affects the behavior of cancers. We examined the molecular effects of a HDAC inhibitor, OBP-801, on prostate cancers. Treatment with OBP-801 efficiently suppressed cell growth of prostate cancer lines, together with AR downregulation, regardless of their hormone sensitivity. Among the upregulated miRNAs after OBP-801 treatment in the cell lines, miR-320a, was the most closely associated with AR expression. An miR-320a mimic suppressed AR protein expression together with growth suppression. Our data demonstrated that OBP-801 effectively suppressed AR activity via upregulation of miR-320a, which resulted in tumor cell growth suppression of prostate cancers. OBP-801 may be a promising AR-targeting reagent in AR-positive prostate cancer regardless of androgen dependency.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：HDAC阻害剤 エピゲノム機構 microRNA アンドロゲン受容体 ホルモン治療抵抗性前立腺癌 heterogeneity 網羅的増殖抑制メカニズム 癌治療

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は本邦で年間約4万人が罹患し、近年急増している。前立腺癌は通常アンドロゲン(男性ホルモン)依存性に増殖する。しかしアンドロゲン枯渇療法(ホルモン療法)後に再燃した前立腺癌はアンドロゲン非依存性に増殖し、ホルモン治療抵抗性となり、全身転移を来し死に至る。現在本邦では年間約1万人が前立腺癌で死亡しており、ホルモン治療抵抗性前立腺癌の増殖機構の解明および治療標的の同定は急務である。ホルモン治療抵抗性の一因に前立腺癌の heterogeneity がある。ヒト前立腺癌組織では、エピゲノム機構の1つであるヒストン修飾の状態が癌細胞個々で異なっていることが報告されている(Nature, 2005)。この前立腺癌の不均一性(heterogeneity)は、多様な細胞増殖メカニズムを有する癌細胞が1つの癌組織内に存在することを意味し、ホルモン治療抵抗性にも関与していることが予測される。ヒストンアセチル化は、ヒストンに巻き付いている遺伝子の転写を活性化し、複数の増殖抑制遺伝子も同時に発現上昇することが知られている。我々はヒストンアセチル化を促進する Histone deacetylase(HDAC) 阻害剤が heterogeneity に富む前立腺癌の増殖を網羅的に抑制しうるのではないかと考えた。これまでに我々は、HDAC 阻害剤が細胞株、動物実験においてアンドロゲン非依存性ラット前立腺癌の細胞増殖が抑制されることを示した。今後、この抗腫瘍効果を制御するゲノム・エピゲノム機構の詳細を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、heterogeneity に富むホルモン治療抵抗性前立腺癌のエピゲノム制御を介した増殖抑制メカニズムの探究である。具体的には、増殖メカニズムの異なる複数のホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞株を用いた解析により、HDAC 阻害剤がヒストンアセチル化により活性化するゲノム・エピゲノム機構を解明し、ホルモン治療抵抗性前立腺癌患者に対する HDAC 阻害剤の普遍的な臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

本研究の目的である、HDAC 阻害剤が複数のアンドロゲン非依存性前立腺癌の増殖メカニズムを抑制する責任遺伝子を同定するために、以下の実験を行った。HDAC 阻害剤には強力なヒストンアセチル化作用を有する OBP-801 を使用した。

(1) 実験1: アンドロゲン依存性・非依存性前立腺癌細胞株(LNCaP, 22Rv1, VCaP)で HDAC 阻害剤により発現変化する遺伝子・miRNA を同定する。

(2) 実験2: 同定した遺伝子から、前立腺癌の増殖メカニズムを共通に、抑制する遺伝子・miRNA の候補を選出する。

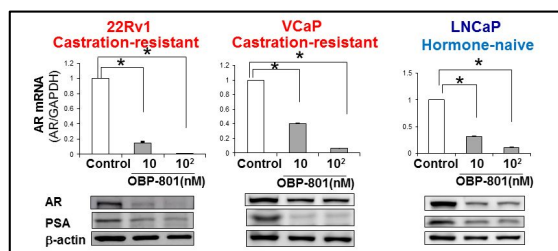
(3) 実験3: 候補遺伝子・miRNA の癌増殖抑制効果の in vivo・in vitro における確認を行い、ヒトホルモン治療抵抗性前立腺癌組織における遺伝子・miRNA 発現を検証する。

4. 研究成果

(1) OBP-801 の前立腺癌細胞株に対する抗腫瘍効果およびアンドロゲン受容体発現制御作用の検討

OBP-801 はホルモン治療感受性前立腺癌細胞株 LNCaP、ホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞株 VCaP、22Rv1 の細胞増殖を有意に抑制した。また細胞浸潤能、移動能も有意に低下させた。OBP-801 は LNCaP、VCaP、22Rv1 のアンドロゲン受容体 mRNA・蛋白発現を低下させた(図1)。

図1. OBP-801 の前立腺癌細胞株に対するアンドロゲン受容体発現制御作用



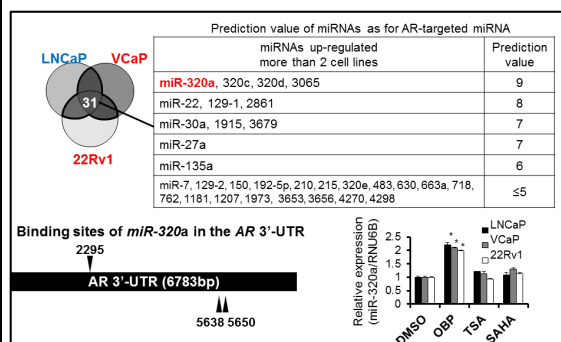
(2) OBP-801 のアンドロゲン受容体遺伝子の転写活性に対する作用

OBP-801 は 22Rv1 のアンドロゲン受容体遺伝子のプロモーター領域を活性化した。この結果、アンドロゲン受容体の発現抑制に miRNA 等のエピゲノム機構の関与が示唆された。

(3) OBP-801 が各前立腺癌細胞株において共通に発現上昇させる miRNA の同定

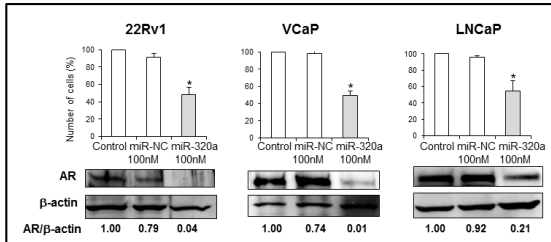
OBP-801 の暴露により3つの前立腺癌細胞株で共通に発現上昇する miRNA を同定した(図2)。この中で miR-320a はアンドロゲン受容体遺伝子の複数の領域を標的とし、また他の HDAC 阻害剤である TSA や SAHA では発現上昇しなかった(図2)。miR-320a のプロモーター予測領域は ChIP アッセイの結果、OBP-801 投与によりヒストンアセチル化が有意に増加していることが確認された。さらに miR-320a の発現は前立腺癌患者の予後と有意に相関し、前立腺癌のアンドロゲン受容体 mRNA 発現と有意に逆相関した。

図2. OBP-801 暴露により3つの前立腺癌細胞株で共通に発現上昇する miRNA の同定



(4) 前立腺癌細胞株を用いた miR-320a の前立腺癌に対する作用
miR-320a はホルモン治療感受性・ホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞株の細胞増殖、およびアンドロゲン受容体発現を有意に抑制した(図3)。

図3、miR-320a の前立腺癌細胞株に対する細胞増殖抑制作用およびアンドロゲン受容体発現抑制作用



一方、anti-miR320a oligonucleotide の transfection により OBP-801 による増殖抑制効果が有意に減少した。

(5) miR-320a の正常前立腺上皮・前立腺癌細胞内における局在

Fluorescent in situ hybridization 法により、miR-320a はヒト正常前立腺上皮では高度に発現していたが、前立腺癌細胞における発現は少数であった。

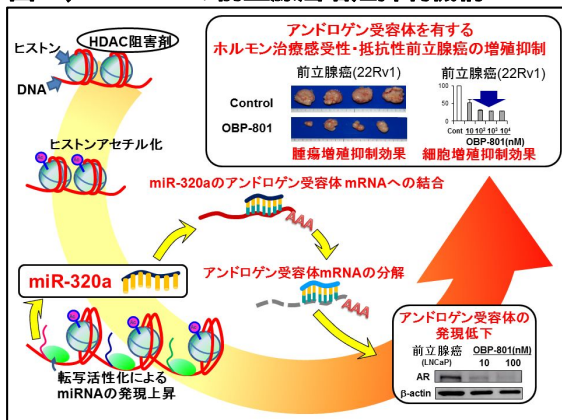
(6) 動物を用いた OBP-801 の前立腺癌抑制作用

ホルモン治療感受性の前立腺発癌ラットモデルにおいて、OBP-801 の投与により miR-320 発現の上昇が見られ、発癌も抑制された。またホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞株を移植したマウスに OBP-801 を投与した結果、無治療対照群と比較し腫瘍の縮小がみられた。

(7) 研究成果のまとめ

以上より、我々は OBP-801 がヒストンアセチル化を介した miR-320a の発現を上昇させ、効果的にアンドロゲン受容体発現を低下させることにより、アンドロゲン受容体陽性のホルモン治療感受性および抵抗性前立腺癌の細胞増殖を抑制することを示した(図4)。OBP-801 は全てのアンドロゲン受容体陽性前立腺癌に対する効果的な治療薬と考える。

図4、OBP-801 の前立腺癌増殖抑制機構



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Shinya Sato, Keisuke Katsushima, Keiko Shinjo, Akira Hatanaka, Fumiharu Ohka, Shugo Suzuki, Aya Naiki-Ito, Norihito Soga, Satoru Takahashi and Yutaka Kondo, Histone Deacetylase Inhibition in Prostate Cancer Triggers miR-320-Mediated Suppression of the Androgen Receptor, Cancer Res, 査読有, vol76, No. 14, 2016, 4192-4204, doi: 10.1158/0008-5472.

[学会発表](計3件)

佐藤 慎哉, Histone deacetylase inhibition in prostate cancer triggers miR-320-mediated suppression of the androgen receptor, 第13回病理学会カンファレンス, 2016年7月29日, 六甲山ホテル(兵庫県神戸市)

佐藤 慎哉, HDAC 阻害剤 OBP-801 の miRNA 発現制御を介した前立腺癌の増殖抑制機構の解明, 第105回日本病理学会総会, 2016年5月14日, 仙台国際センター(宮城県仙台市)

Shinya Sato and Yutaka Kondo, Inhibition of histone acetylase induces miR-320-mediated androgen receptor suppression in prostate cancer, American Association for Cancer Research 107th Annual Meeting 2016, 2016年4月16日, Ernest N. Memorial Convention Center (New Orleans, Louisiana, USA)

[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0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〕
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

佐藤 慎哉 (SATO, Shinya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究
員

研究者番号：30464564