

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11132

研究課題名(和文)患者由来ゼノグラフトモデルを用いた前立腺癌新規治療薬効果予測マーカーの開発

研究課題名(英文) Exploration of novel prostate cancer predictive markers using patient-derived xenograft models

研究代表者

寺田 直樹 (Terada, Naoki)

宮崎大学・医学部・講師

研究者番号：60636637

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：近年、前立腺癌に対する新規治療薬が次々と開発されていく中で、去勢治療抵抗性前立腺癌(CRPC)に対する治療法は多様化している。適切な治療薬選択のためにバイオマーカーの開発が急務である。我々が新規に樹立したPatient derived xenograft(PDX)は前立腺癌の病理学的、分子学的状態を模倣しており、前立腺癌病態解明に非常に有用である。また、Patient derived xenograft(PDX)モデルを用いて検索した分子IL13Ra2は、前立腺癌去勢療法反応性予測マーカーとなる可能性があることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌の治療は多様化している、特に去勢治療抵抗性前立腺癌となった病態は進行性であり、治療に難渋する。去勢治療抵抗性前立腺癌に対する新規治療薬は複数あるが、適切に病態を反映するマーカーが存在しない。このため、治療薬の選択が非常に難しい状態である。

前立腺癌病態解明のために新規に樹立したマウスモデルを使用し、前立腺癌去勢療法反応性予測マーカーの発見は臨床的に非常に大きな意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The therapy for castration resistant prostate cancer (CRPC) diversifies while a new therapeutic drug for prostate cancer are present. Development of the biomarker is urgently needed for appropriate therapeutic drug choice. We established Patient derived xenograft (PDX) models for a prostate cancer clinical condition elucidation. The PDX models resembles an original cancer for pathological molecular study. IL13Ra2 which was considered to be a candidate by using PDX was identified as a potential biomarker for predicting castration-resistance of prostate cancer.

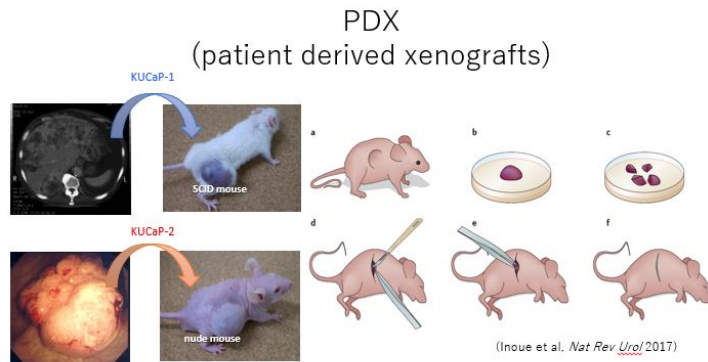
研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 マウスモデル 去勢治療抵抗性 IL13Ra2

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、前立腺癌に対する新規治療薬が次々と開発されていく中で、去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) に対する治療法は多様化している。患者毎に適切な治療薬を選択することが重要であり、それらの効果を予測するバイオマーカーの開発が急務である。我々が新規に樹立した、Patient derived xenograft (PDX) モデルである KUCaP シリーズは、その治療感受性と遺伝子発現に多様性を有する。その特徴を用いて、様々な CRPC に対する治療薬の効果予測マーカーを同定し、オーダーメイド医療の開発を目指す。



2. 研究の目的

食生活の変化や高齢化に伴い、前立腺癌は近年急速に増加している疾患であり、その 10~20% は進行性前立腺癌である。進行性前立腺癌の標準治療は去勢療法であるが、多くはやがて去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) へと進展する。CRPC においても前立腺癌細胞内におけるアンドロゲン受容体 (AR) 経路の再活性化が認められ、近年、AR 経路をさらに強力に阻害する薬剤であるエンザルタミドや、アンドロゲンの代謝を抑制する CYP17 阻害剤であるアピラテロンが開発され、有効な CRPC 治療薬であることが示された。それらに加え、既存の抗癌剤であるドセタキセルや、新規抗癌剤であるカバジタキセルなど、CRPC に対する治療は多様化している。CRPC の抵抗性獲得機序の多様性ゆえ、各治療に対する感受性も様々であり、適切な CRPC 治療薬選択のためには各治療による効果を予測するバイオマーカーの確立が急務である。

LNCaP、VCaP、PC3、DU145、22Rv1 といった既存の前立腺癌細胞株を用いたマウス Xenograft モデルの多くは、去勢反応性、AR や PSA の発現といった臨床的特徴を十分に再現しておらず、治療モデルとして適しているとは言えない。我々はこれまで前立腺癌患者組織由来の PDX モデル (KUCaP1-3) を独自に作成樹立し、それらを用いて、AR の変異と治療抵抗性との関連解析、新規 CRPC 治療標的の同定⁵⁾、腫瘍分泌液を用いた新規マーカー候補蛋白の同定、質量顕微鏡を用いた脂質発現解析⁷⁾ などの研究を行ってきた。現在までに、安定して継代可能な新たな PDX モデルを計 9 系統 (KUCaP1-9) 樹立した。それらは、腫瘍増大速度、PSA の発現、AR の発現や変異に多様性を認めることがわかった (表 1)。

これらのモデルは、臨床における前立腺癌の多様性を反映しており、各種 CRPC 治療薬に対する治療反応性も様々であると予測される。本研究ではこれらの PDX モデルを用いて、多様化する CRPC 治療薬の効果を予測する新規バイオマーカーの開発を目指す。

3. 研究の方法

各 KUCaP マウスに対して去勢を行い、腫瘍の去勢反応性を確認する。

各 KUCaP の腫瘍組織における全 RNA シークエンスと網羅的蛋白解析を行い去勢治療

抵抗性に対する遺伝子変異や発現が相関する分子を抽出する。

候補分子の強制発現細胞株、発現抑制株を作成し in vitro、in vivo における表現型や、去勢治療反応性の相違を確認する。

臨床検体を用いて、候補分子の発現の違いによる去勢治療抵抗性前立腺癌発生の関連について検討する。

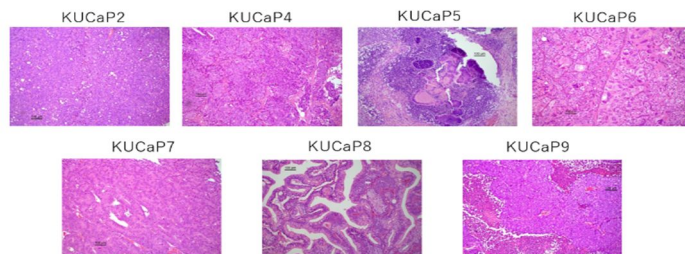
4. 研究成果

各 KUCaP の特徴を表 1 に示す。腫瘍の増大速度、PSA,AR の発現、去勢反応性について差を認めた。また、病理組織においても、臨床像と同様に多様性を示した。

表1 各KUCaPの特徴

KUCaP No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
採取部位	肝転移	前立腺	前立腺	前立腺	前立腺	骨転移	骨転移	骨転移	陰茎転移
増大速度	+	+	±	+	+	+	++	+	+++
PSA発現	+	+	++	++	-	-	+	++	-
AR発現	+	+	++	+	++	+	++	++	-
AR mutation	+	-	+	-	+	-	-	-	-
去勢反応性	++	+	++	-	確認中	-	+	++	-

樹立したKUCaPs(PDX)の病理所見

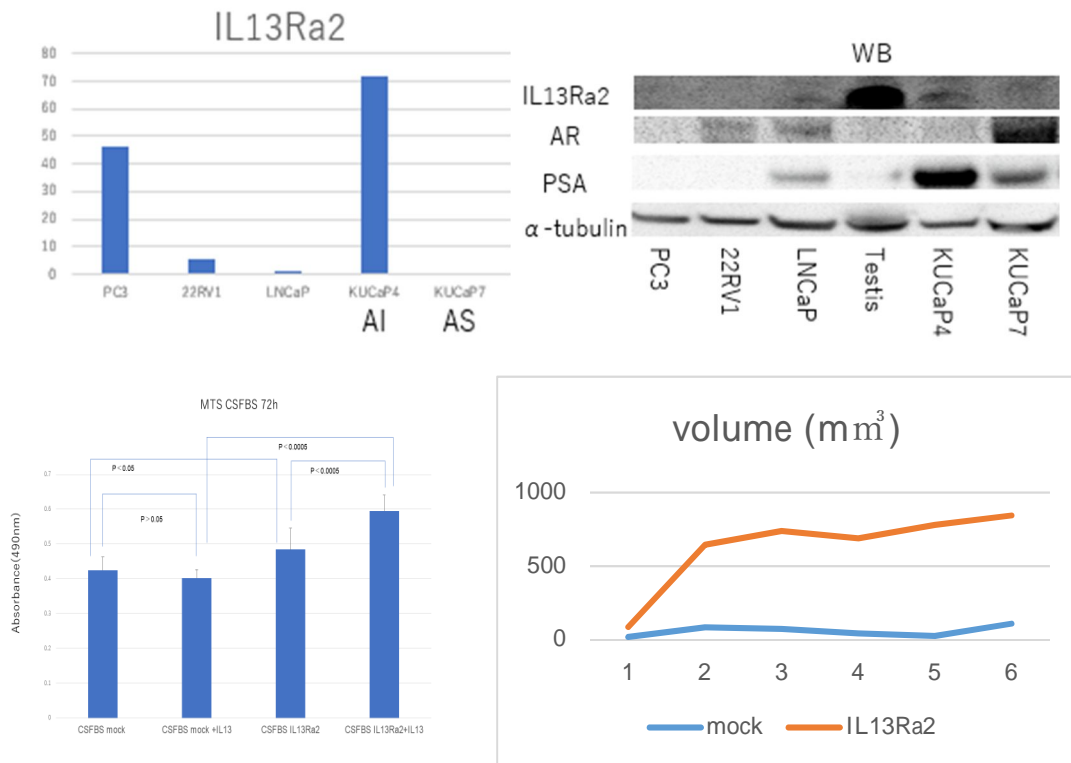


去勢治療抵抗性(AI) KUCaP 4,6 と去勢治療反応性(AS) KUCaP2,7、去勢治療反応性細胞株 LNCaP において RNA sequence を使用し遺伝子発現の解析を行った。AI において高発現であった遺伝子 IL13Ra2(インターロイキン 13 受容体 2)について着目し去勢反応性予測マーカー候補となる可能性について検証を行った。IL13Ra2 は、ヒト腎臓癌細胞株 Caki-1 からクローニングされた 1 回膜貫通 I 型膜タンパク質である。IL13RA2 は IL13 との高い結合能を有し、腫瘍免疫において重要な役割を果たしていると考えられる。グリオーマ、腎臓癌、頭頸部癌、卵巣癌、カポジ肉腫などで高発現が確認されている。また、大腸癌、卵巣癌、の浸潤・転移に関与すると報告され、さらにグリオブラストーマや膀胱癌などで治療標的となる可能性が示されている。また、同分子については、京都大学泌尿器科学教室における腎癌 PDX モデルを用いた研究により、スニチニブ療法耐性に関わる分子として報告されている。

RNA seqによる遺伝子発現解析

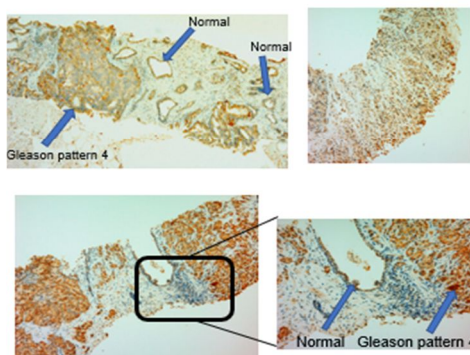


KUCaP4,7、前立腺癌細胞株の PC3,22RV1,LNCaP から RNA と蛋白を抽出し、real time PCR 法、Western blotting 法による IL13Ra2 の発現解析を行った。次に、去勢治療反応性前立腺癌細胞株である LNCaP を用いて安定的に IL13Ra2 の強制発現した細胞を樹立した。*in vitro*の実験においてはアンドロゲンを除去した培地で培養した結果 72 時間の細胞増殖能で有意な差を認めた。*in vivo*の実験において、マウス皮下に移植し、マウスの去勢療法を行うことで去勢反応性の違いを解析したところ腫瘍の生着、増大速度に差を認めた。



治療前前立腺生検臨床検体組織を用いて免疫染色を行なったところ、後に CRPC となった患者において有意に IL13Ra2 免疫染色陽性率が高かった。前立腺癌治療前に CRPC へ移行することを予見するバイオマーカーとなる可能性があると考えられる。

Clinicopathological characteristics and IL13Ra2 staining in CRPC and non-CRPC



	CRPC	non-CRPC	P-value
Number	16	27	
Median serum PSA (ng/ml)	286.0(10.1-2891)	28.6(4.12-4439)	0.002*
Gleason score, n (%)			
6	0 (0.0)	9 (33.3)	
7-8	3 (18.6)	8 (29.6)	
9-10	13 (81.6)	10 (37.0)	
Median Gleason sum	8(6-10)	9(8-9)	0.050*
IL13Ra2 staining grade			0.004†
None	2	12	
Weak	3	10	
Moderate	8	5	
Strong	3	0	

* Mann-Whitney U-test.
† X² test between CRPC and non-CRPC

結語

Patient Derived Xenograft (PDX) モデルである KUCaP シリーズを用いて同定された分子である IL13Ra2 は CRPC に移行する前立腺癌の予測マーカーとなりうる可能性がある。また、RNA シークエンスで同定された他分子についても今後の検討で有用であることが証明される可

能性が高いと考えられる。Patient Derived Xenograft (PDX)である KUCaP シリーズは前立腺癌の病態解明において有用なモデルである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ito K, Negoro H, Kubota M, Takada H, Magaribuchi T, Sawada A, Akamatsu S, Kobayashi T, Terada N, Yamasaki T, Inoue T, Kamba T, Teramoto Y, Ogawa O.	4. 巻 Apr;63(4)
2. 論文標題 A Case of Thyroid-Like Follicular Carcinoma of the Kidney(Japanese).	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hinyokika Kiyo.	6. 最初と最後の頁 145-149.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kubota M, Terada N, Ito K, Takada H, Magaribuchi T, Sawada A, Akamatsu S, Negoro H, Saito R, Kobayashi T, Yamasaki T, Inoue T, Ogawa O.	4. 巻 May 5;13:
2. 論文標題 A 45,X/46,XY Male with Orchidopexy Diagnosed with Mixed Germ Cell Tumor After 21-year Follow-up.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Urol Case Rep.	6. 最初と最後の頁 120-122.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Terada N, Maughan BL, Akamatsu S, Kobayashi T, Yamasaki T, Inoue T, Kamba T, Ogawa O, Antonarakis ES.	4. 巻 Jun;24(6)
2. 論文標題 Exploring the optimal sequence of abiraterone and enzalutamide in patients with chemotherapy castration-resistant prostate cancer: The Kyoto-Baltimore collaboration.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Int J Urol.	6. 最初と最後の頁 441-448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Inoue T, Terada N, Kobayashi T, Ogawa O.	4. 巻 May;14(5)
2. 論文標題 Patient-derived xenografts as in vivo models for research in urological malignancies.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nat Rev Urol.	6. 最初と最後の頁 267-283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terada N, Akamatsu S, Kobayashi T, Inoue T, Ogawa O, Antonarakis ES.	4. 巻 Aug;9(8)
2. 論文標題 Prognostic and predictive biomarkers in prostate cancer: latest evidence and clinical implications.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ther Adv Med Oncol.	6. 最初と最後の頁 565-573
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takada H, Kobayashi T, Ogawa K, Miyata H, Sawada A, Akamatsu S, Negoro H, Saito R, Terada N, Yamasaki T, Inoue T, Teramoto Y, Shibuya S, Haga H, Kaido T, Uemoto S, Ogawa O.	4. 巻 Aug;63(8)
2. 論文標題 Simultaneous Hepatorenal Transplantation from a Brain-Dead Donor for Graft Dysfunction and Renal Insufficiency in a Liver Transplant Recipient : A Case Report(Japanese)	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Hinyokika Kiyo.	6. 最初と最後の頁 313-318
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Funada S, Kawaguchi T, Terada N, Negoro H, Tabara Y, Kosugi S, Yamada R, Nakayama T, Akamatsu S, Yoshimura K, Matsuda F, Ogawa O, Nagahama Study Group.	4. 巻 Mar;199(3)
2. 論文標題 Cross-Sectional Epidemiological Analysis of the Nagahama Study for Correlates of Overactive Bladder: Genetic and Environmental Considerations.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Urol.	6. 最初と最後の頁 774-778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Inoue T, Mizowaki T, Kabata D, Shintani A, Terada N, Yamasaki T, Negoro H, Kobayashi T, Nakamura K, Inokuchi H, Ogawa O.	4. 巻 Apr;16(2)
2. 論文標題 Recovery of Serum Testosterone Levels and Sexual Function in Patients Treated With Short-term Luteinizing Hormone-releasing Hormone Antagonist as a Neoadjuvant Therapy Before External Radiotherapy for Intermediate-risk Prostate Cancer: Preliminary Prospective Study.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Clin Genitourin Cancer.	6. 最初と最後の頁 135-141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi T, Kanao K, Araki M, Terada N, Kobayashi Y, Sawada A, Inoue T, Ebara S, Watanabe T, Kamba T, Sumitomo M, Nasu Y, Ogawa O.	4. 巻 Apr;23(2)
2. 論文標題 Impact of a robotic surgical system on treatment choice for men with clinically organ-confined prostate cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 347-352
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okumura Y, Akamatsu S, Okada Y, Negoro H, Kobayashi T, Terada N, Yamasaki T, Matsui Y, Inoue T, Kamba T, Ogawa O.	4. 巻 Mar;64(3)
2. 論文標題 Clinical Utility of Upper Urinary Tract Reconstruction by Ileal-Ureter Substitution(Japanese).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hinyokika Kyo.	6. 最初と最後の頁 87-94.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kubota M, Yamasaki T, Teramoto Y, Ito K, Takada H, Magaribuchi T, Sawada A, Akamatsu S, Negoro H, Saito R, Kobayashi T, Terada N, Inoue T, Kamba T, Ogawa O.	4. 巻 Mar;64(3)
2. 論文標題 Two Cases of Metastatic and Recurrent Non-Clear Cell Renal Cell Carcinoma Re-Diagnosed as Renal Mucinous Tubular and Spindle Cell Carcinoma during Long-Term Follow-Up(Japanese).	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Hinyokika Kyo.	6. 最初と最後の頁 111-115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito K, Takashima Y, Akamatsu S, Terada N, Kobayashi T, Yamasaki T, Inoue T, Kamba T, Ogawa O, Negoro H.	4. 巻 Sep;37(7)
2. 論文標題 Evaluation by preoperative cystoscopy and outcome in HoLEP.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Neurourol Urodyn.	6. 最初と最後の頁 2160-2166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamibeppu T, Yamasaki K, Nakahara K, Nagai T, Terada N, Tsukino H, Mukai S,	4. 巻 Oct 3;10:
2. 論文標題 Caveolin-1 and -2 regulate cell motility in castration-resistant prostate cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Res Rep Urol. 2018	6. 最初と最後の頁 135-144.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Terada N, Kamoto T, Tsukino H, Mukai S, Akamatsu S, Inoue T, Ogawa O, Narita S, Habuchi T, Yamashita S, Mitsuzuka K, Arai Y, Kandori S, Kojima T, Nishiyama H, Kawamura Y, Shimizu Y, Terachi T, Sugi M, Kinoshita H, Matsuda T, Yamada Y, Yamamoto S, Hirama H, Sugimoto M, Kakehi Y, Sakurai T, Tsuchiya N.	4. 巻 Feb 15;19(1)
2. 論文標題 The efficacy and toxicity of cabazitaxel for treatment of docetaxel-resistant prostate cancer correlating with the initial doses in Japanese patients.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer.	6. 最初と最後の頁 156
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakahara K, Yamasaki K, Nagai T, Fujii M, Akioka T, Takamori H, Terada N, Mukai S, Sato Y, Kamoto T.	4. 巻 Apr 11
2. 論文標題 Expression of protease activating receptor-2 (PAR-2) is positively correlated with the recurrence of non-muscle invasive bladder cancer: an immunohistochemical analysis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Res Rep Urol.	6. 最初と最後の頁 97-104.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Nagai T, Terada N, Mukai S, Nakahara K, Fujii M, Kamoto T.
2. 発表標題 Identification of IL13Ra2 as a biomarker for castration-resistance prostate cancer using patient derived xenograft model
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Naoki Terada, Benjamin L. Maughan, Shusuke Akamatsu, Takashi Kobayashi, Toshinari Yamasaki, Takahiro Inoue, Tomomi Kamba, Osamu Ogawaa, Emmanuel S. Antonarakis
2. 発表標題 Exploring optimal sequence of abiraterone and enzalutamide in patients with chemotherapy castration-resistant prostate cancer: the Kyoto-Baltimore collaboration
3. 学会等名 ASCO GU
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Naoki Terada, Masato Fujii, Shoichiro Mukai, Takahiro Inoue, Osamu Ogawa, Toshiyuki Kamoto
2. 発表標題 The efficacy of abiraterone or enzalutamide and docetaxel as first- and second-line treatment for patients with castration-resistant prostate cancer
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考