

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16780

研究課題名(和文) 去勢抵抗性前立腺癌に対する新規薬剤治療比較解析

研究課題名(英文) Comparative analysis of new drug treatments for castration resistant prostate cancer

研究代表者

今村 有佑 (Imamura, Yusuke)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：10568629

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：去勢抵抗性前立腺癌のメカニズムとして、アンドロゲン受容体(AR)のリガンド結合部位(LBD)が欠失したSplice Variantsの発現増加が注目され、近年このSplice Variantsを含めあらゆるARを阻害可能な新規薬剤が開発され(EPI-506)、北米で臨床試験が行われていた。本研究では、主にこのEPIと同等あるいはそれ以上の阻害効果が期待できる類似化合物(I-EPI)の治療効果を、動物実験の免疫不全マウスを用いて比較実験を行ったところ、I-EPIはEPIと比較し一定の腫瘍縮小効果は認められたものの、EPIと同等の腫瘍縮小効果は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行癌である去勢抵抗性前立腺癌のメカニズムとして、アンドロゲン受容体(Androgen Receptor; AR)のリガンド結合部位(Ligand-binding domain; LBD)が欠失したSplice Variantsの発現増加が注目され、近年、ARのN末端に直接結合し、このSplice Variantsを含めあらゆるARを阻害可能な新規薬剤が開発され(EPI-506)、北米で臨床試験が行われていた。本研究では、主にこのEPIと同等あるいはそれ以上の阻害効果が期待できる類似化合物(I-EPI)の治療効果を、動物実験をもとに比較・解析し、今後の臨床応用が可能かどうか模索した。

研究成果の概要(英文)：As a mechanism of castration-resistant prostate cancer, increased expression of Splice Variants lacking the ligand binding domain (LBD) of the androgen receptor (AR) has attracted attention. In recent years, a new drug was developed (EPI-506) which can inhibit all ARs including splice Variants, and clinical trials were conducted in North America. In this study, the therapeutic effect of a similar compound (I-EPI) which is expected to have an inhibitory effect equivalent to or higher than EPI by using immunodeficient mice in animal experiments. Compared with EPI, a certain tumor-reducing effect was observed but not equivalent to EPI.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌では、男性ホルモンであるアンドロゲンの合成と、アンドロゲン受容体 (Androgen Receptor; AR) を介した転写活性シグナルが癌の発生、増殖、転移、浸潤に重要であることは以前より知られている。その AR をターゲットとし、転写活性を阻害する薬剤が市販化され、進行性前立腺癌治療の中心となっている。しかし、それらの薬剤は一定の効果を示し、生命予後を改善するが、いずれそれらの薬剤に抵抗性となり、致死的な去勢抵抗性前立腺癌 (Castration-Resistant Prostate Cancer; CRPC) の状態になることがわかっている。そのメカニズムとして近年、AR のリガンド結合部位 (Ligand-binding domain; LBD) が欠失している Splice Variants の発現増加が注目されている。特に、Splice Variants の一つである AR-V7 の発現があると、CRPC 患者の予後が悪いというデータが示されており、臨床的にも治療効果判定や予後予測に重要であると考えられている。

AR の構造は主に、アンドロゲン等リガンドが結合する Ligand-binding domain(LBD)、DNA と結合する DNA-binding domain(DBD)、AR の核内移行に重要な Hinge Region(HR)、さらに転写活性に必要な不可欠な Activation Function 1(AF-1)を含む N-terminal domain(NTD)から構成されている。現在市販化されている薬剤はすべて AR の LBD に作用するため、AR-V7 に代表される Splice Variants を阻害することができない。しかし、近年、AR の NTD に直接結合することでこの Splice Variants 含めあらゆる AR を阻害することが可能な新規薬剤が開発され (*Cancer Cell*. 2010 Jun 15;17(6):535-46)、北米で臨床試験が開始されていた(薬剤名 EPI-506; NCT02606123)。

2. 研究の目的

本申請者は、カナダ留学中 (BC Cancer Agency Genome Sciences Centre;2013-2016年) この EPI に放射性同位元素のヨード 123 (^{123}I) を結合し、SPECT/CT(Single Photon Emission Computed Tomography/Computed Tomography)を用いた AR を可視化するイメージングプローブの開発を行い、特許を取得した (HALOGENATED COMPOUNDS FOR CANCER IMAGING AND TREATMENT AND METHODS FOR THEIR USE. Patent application number: 20150125389. 2015-05-07)。

^{123}I -EPI は EPI 同様、AR-NTD 内の AF-1 蛋白と共有結合することを証明し、動物モデルで、免疫不全マウスに前立腺癌細胞株の異種移植 (Xenograft) を作製し、SPECT/CT を用いて皮下腫瘍株内の AR の発現を可視化することに成功した。さらに、その過程で EPI のヨード化により (I-EPI)、オリジナルの薬剤である EPI と比較し、細胞増殖抑制効果が同等または増強する可能性を *In Vitro* で証明した。本研究では、主にこの EPI と同等あるいはそれ以上の阻害効果が期待できる類似化合物 (I-EPI) の治療効果を、動物実験をもとに比較・解析し、今後の臨床応用が可能かどうか模索することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、動物疾患モデルとして、免疫不全マウスに前立腺癌細胞株の xenograft モデルを皮下に作製し、I-EPI、EPI 及び既存の薬剤をマウスに投与しその皮下腫瘍株における抗腫瘍効果を比較・解析する計画を立てた。

具体的には、動物疾患モデルとして、免疫不全マウスに前立腺癌細胞株の xenograft モデルを皮下に作製し、I-EPI 及び EPI、さらには現在市販化されている抗アンドロゲン薬をマウスに投与しその腫瘍増殖抑制効果を比較検討した。FL-AR だけでなく AR-V7 を発現し、CRPC モデルとして最適な前立腺癌細胞株である LNCaP95 を用いて Xenograft モデルを皮下に作製し、コントロール群、I-EPI、EPI、市販化されている Enzalutamide を治療薬としてマウスに投与し治療効果を比較・解析した。

細胞株をインキュベーターにて培養し、去勢手術を施行後2週間経過した免疫不全マウス (SCIDまたはNOD-SCIDマウス)にLNCaP95のXenograftモデルを背部皮下に作製し(細胞数500万/1 site)、皮下腫瘍株が50-100mm³に増大したことを確認後、治療開始。本申請者の以前の研究結果によりLNCaP95皮下腫瘍株の生着率は75%程度であることが確認されているため、各治療群10匹ずつマウスを用意して条件設定を行う。以前の *in vitro* の解析からは、I-EPIはオリジナルの化合物であるEPIよりも1/10 以上低い濃度で同等の細胞増殖抑制効果、転写活性阻害効果が確認できている。治療薬としてはI-EPI、EPI、そして近年市販化され現在CRPC患者に使用されているAR-LBDに作用する抗アンドロゲン剤(Enzalutamide)を使用した。よって、治療群としてはコントロール群(溶媒のみ)、I-EPI群、オリジナルのEPI群(I-EPIと同等量;抗腫瘍効果を認める1/5の量)、Enzalutamide群(通常量)に分け、マウスに静脈投与し治療効果を比較した。I-EPI 及びEPIは、共同研究を結んでいるBCCA Genome Sciences CentreのSadar教授またはBritish Columbia大学Andersen教授より提供していただいた。Enzalutamideは研究用を購入した。

静脈投与はマウスの尾静脈を用いて行い、投与は1日おき、計7回投与した(合計14日)。その間、適宜各治療群のすべての腫瘍体積を計測し、薬剤の腫瘍縮小効果の統計解析に用いた。腫瘍株が過度に増大した場合や薬剤の静脈投与による尾部の壊死が見られた場合は学内の動物実験委員会の定めるところに従って治療中止または安楽死を行った。

4. 研究成果

当施設で予備実験として同様の *In Vitro* の実験を行ったところ、I-EPI はオリジナルの化合物である EPI よりも 1/5 程度の濃度でしか細胞増殖抑制効果を認めず、実験系を確立するため

に時間を要したが、薬剤の濃度調整、実験条件の調整等を行い、細胞増殖抑制効果を確認することができた。続いて動物実験の免疫不全マウスを用いて LNCaP95 細胞の Xenograft 作成を行い、比較実験を行ったところ、皮下腫瘍株の生着率が低く条件設定が非常に困難であったが、コントロール群と比較し、I-EPI 投与群の腫瘍縮小効果は一定程度認められたものの、オリジナルの EPI 投与群の腫瘍縮小効果と比較し同等の腫瘍縮小効果は認めない結果であった。

この基礎実験と同時に臨床研究として、千葉大学医学部附属病院にて抗がん剤治療（ドセタキセル治療）を行った CRPC 患者において、予後を規定する臨床パラメータを模索する後ろ向き解析を行ったところ、血清テストステロン値が有意な予後規定因子であることを証明し、論文発表した。

Ando K, Sakamoto S, Takeshita N, Fujimoto A, Maimaiti M, Saito S, Sanjyon P, Imamura Y, Sato N, Komiya A, Akakura K, Ichikawa T. Higher serum testosterone levels predict poor prognosis in castration-resistant prostate cancer patients treated with docetaxel. *Prostate*. 2020 Feb;80(3):247-255.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Ando Keisuke, Sakamoto Shinichi, Takeshita Nobushige, Fujimoto Ayumi, Maimaiti Maihulan, Saito Shinpei, Sanjyon Pae, Imamura Yusuke, Sato Nobuo, Komiya Akira, Akakura Koichiro, Ichikawa Tomohiko	4. 巻 80
2. 論文標題 Higher serum testosterone levels predict poor prognosis in castration resistant prostate cancer patients treated with docetaxel	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Prostate	6. 最初と最後の頁 247 ~ 255
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1002/pros.23938	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----