

令和 2 年 5 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K16794

研究課題名(和文) 去勢抵抗性前立腺癌におけるPRL1を標的とした新規治療戦略の開発

研究課題名(英文) PRL1-targeted therapy for castration-resistant prostate cancer

研究代表者

福岡 憲一郎 (Fukuoka, Kenichiro)

広島大学・病院(医)・医科診療医

研究者番号：20794762

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)：去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)株の細胞表面に発現しているPRL1は治療標的として期待できなかったため、細胞分裂や細胞内物質輸送輸送に関与するキネシン14ファミリーの一つであるKIFC1に着目した。KIFC1はCRPC細胞のタキサン系抗がん剤への耐性獲得に関わっていた。ドセタキセルへの耐性を示すCRPC株に、KIFC1の阻害薬であるCW069をドセタキセルとともに投与したところ、ドセタキセルの抗腫瘍効果が改善した。さらにCW069は正常前立腺細胞への毒性を示さなかったことから、KIFC1は良好な治療標的となり得、その阻害薬であるCW069はCRPCの有望な治療薬となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)の治療薬の開発は近年目覚ましいものの、いまだ治癒は難しく、死に至る病である。CRPCが予後不良な疾患である要因の一つに、効果を示した薬剤がいずれは効かなくなる、つまり耐性を獲得することが挙げられる。本研究により、CRPC細胞がタキサン系抗がん剤への耐性を獲得する過程にモーター蛋白であるKIFC1が関与し、さらにKIFC1の阻害薬の投与でタキサン系抗がん剤への耐性が緩和され、抗腫瘍効果が改善することが示された。一度耐性を示した治療薬にもう一度感受性を取り戻させることができるという、既存の薬剤機序とは異なったアプローチであり、有望な治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：As PRL1 was not an efficient therapeutic target localizing at cell membrane of castration-resistant prostate cancer (CRPC), we alternatively focused on KIFC1, a member of kinesin-14 family that involved in cell division and intracellular transport. KIFC1 was involved in acquired resistance to taxane anticancer agents in CRPC cells. Antitumor activity of docetaxel to taxane-resistant CRPC cells was recovered only when concomitant administration of KIFC1 inhibitor drug, CW069. No cytotoxic actions of CW069 to normal prostate cells were identified. Therefore, KIFC1 inhibitor drug, CW069 might be promising therapeutic drug for CRPC.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 PRL1 KIFC1 タキサン系抗がん剤耐性 CW069

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) の予後は悪く、新たな治療法の開発が望まれている。現在用いられている分子標的薬の中で高い治療効果をあげているものは、癌細胞表面蛋白に結合して作用するという特徴を有す。これまで CAST 法により protein-tyrosine-phosphatase of regenerating liver 1 (PRL1) がヒトアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 DU145 の細胞表面に特異的に発現していることが同定され、さらに PRL1 は前立腺癌の去勢抵抗性獲得と腫瘍の増殖・浸潤・遊走に密接に関係することが解明されている。以上より PRL1 は CRPC の創薬に結び付く癌細胞表面蛋白であると期待されている。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、以下の3つである。

(1) PRL1 をノックダウンおよび強制発現させた CRPC 細胞株を用いて、遺伝子操作前後で発現が変化した分子群を CAST 法および cDNA microarray によって同定する。

(2) 同定した分子群のパスウェイ解析により、CRPC 細胞における PRL1 の分子機構を明らかにする。

(3) 同定した分子群について、CRPC 症例の臨床検体組織における発現の解析と血中濃度の測定を行い、臨床病理学的因子、臨床経過、および予後との相関について検討する。

### 3. 研究の方法

(1) CAST 法および cDNA microarray を用いた PRL1 の発現変化に伴い変化する遺伝子の抽出：PRL1 を強制発現させたヒトアンドロゲン感受性前立腺癌細胞株 LNCaP とノックダウンさせたヒトアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 DU145 を用いて mRNA を抽出し CAST library を作成する。

(2) 候補遺伝子の細胞生物学的機能解析：抽出された候補遺伝子に対してはその細胞生物学的な機能解析を前立腺癌細胞株で検討する。強制発現系、発現抑制系を用い細胞増殖能、浸潤能、遊走能、薬剤感受性などについて検討する。

細胞増殖能：MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay

浸潤能/遊走能：Boyden chamber assay/ Collagen I 4 well Culture Slide を用いた Scratch assay

薬剤感受性：日本で実際に使用可能なドセタキセル、カバジタキセル、エンザルタミド、アピラテロンを使用しての評価を予定する。

(3) 前立腺癌患者血清・臨床検体組織での候補遺伝子の検討：CRPC 患者の血清での発現量を測定し、腫瘍マーカーとして応用できるか検討する。さらに候補遺伝子群を、アンドロゲン依存性前立腺癌、CRPC、化学療法抵抗性前立腺癌の臨床検体組織で、定量的 RT-PCR 法と免疫組織学的染色を用いて検証する。

### 4. 研究成果

(1) CRPC 株を用いて PRL1 のノックダウン

ヒトアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株の PRL1 のノックダウンを行ったところ、その細胞株ではアポトーシスが誘導され、細胞株の生命維持が極めて困難であった。PRL1 は生命の維持にきわめて重要な役割を担っていると考えられ、これの遺伝子操作を断念せざるを得なかった。

(2) CRPC 株に発現する別の標的蛋白の探索

CRPC 細胞のタキサン系耐性メカニズムに関わる別の新たな標的蛋白を同定し、タキサン系耐性の克服を目指すため、前立腺癌細胞株を用いてドセタキセル、カバジタキセル耐性株を樹立した。増殖アッセイを行い、親株に比べ、耐性株で、それぞれドセタキセル、カバジタキセル耐性であることを確認した。当研究室で KIFC1 がドセタキセル耐性に関わっていることを過去に報告しており、耐性株を使用における KIFC1 の発現および機能を解析した。ウェスタンブロットティングでは、KIFC1 は親株に比べ耐性株で発現が上昇しており、KIFC1 をノックダウンすることで耐性株はドセタキセル、カバジタキセルへの感受性が改善した。このメカニズムとして KIFC1 のアポトーシスシグナルへの関与を検討した。ドセタキセル治療を受けた CRPC 患者 25 例における KIFC1 の発現を免疫染色で検討したところ、KIFC1 陽性群は生存率が不良であることを明らかにした。

(3) ドセタキセル耐性株における KIFC1 阻害薬の効果

KIFC1 阻害薬として CW069 が報告されており、正常前立腺および耐性株における CW069 の効果について検討した。KIFC1 は正常前立腺細胞株である RWPE-1 には発現を認めておらず、CW069 を投与しても細胞増殖の抑制を認めなかった。CW069 は癌特異的な効果を示し、正常細胞への毒性は

限定的であると考えられた。次に、KIFC1 のノックダウンによりドセタキセルへの感受性を改善させる結果を踏まえて、CW069 とドセタキセルの相乗効果について検討した。ドセタキセル耐性株においてドセタキセル投与下では増殖抑制効果を殆ど認めなかったが、CW069 とドセタキセルの併用により明らかな増殖抑制効果を認めた。ELIZA によるアポトーシスアッセイにおいても同様に CW069 とドセタキセルの併用療法により相乗的にアポトーシスを認めた。これらの結果より KIFC1 は有望な治療標的と考えられ、さらに CW069 は有望な治療薬の可能性が示唆された。現在、動物モデルを用いて CW069 の効果について検討しているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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