

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16709

研究課題名（和文）難治性前立腺癌におけるEMT関連因子とARのクロストーク解明と新規治療戦略の確立

研究課題名（英文）Novel treatment of refractory prostate cancer by targeting androgen receptor signaling and epithelial mesenchymal transition associated factors

研究代表者

楊井 祥典（YANAI, YOSHINORI）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教

研究者番号：40813522

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）：腫瘍の進展にはPI3K、AR pathwayなどが、浸潤、転移にはEMTが関与しているが、ARとEMT関連因子との関係については明らかではなく、難治性前立腺癌に対する新規治療戦略に寄与すると考え検討を行った。ホルモン感受性前立腺癌細胞株LNCaPにおいて、ZEB1過剰発現によりZEB1は抗がん剤耐性に関与している可能性が示された。転移性CRPC細胞株DU145においては有意差がみられず、ZEB1の抗がん剤耐性にはARが関与している可能性が示唆された。Real-time PCR、Western blot法においても、ZEB1過剰発現によりARの発現低下、ZEB1抑制によりARの再発現を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌の腫瘍の進展、浸潤、転移のそれぞれについては様々な報告がされているが、それらが相互にどのように関係しているのかは明らかではない。これらの転写因子群のシグナル制御機構を解明することで、浸潤・転移能、難治性・治療抵抗性の獲得に関する新たな知見となり、さらに難治性前立腺癌に対する新たな治療戦略を確立するための一助になると考えている。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the therapeutic potential of targeting androgen receptor signaling and epithelial mesenchymal transition associated factors. We used two human prostate cancer cell lines: LNCaP, a hormone-sensitive prostate cancer cell line; and DU145, a castration-resistant prostate cancer cell line. ZEB1 overexpression in LNCaP induced docetaxel resistance. Real-time PCR and western blotting showed ZEB1 overexpression reduced the expression of AR, and ZEB1 knockdown reinduced the expression of AR.

研究分野：前立腺癌

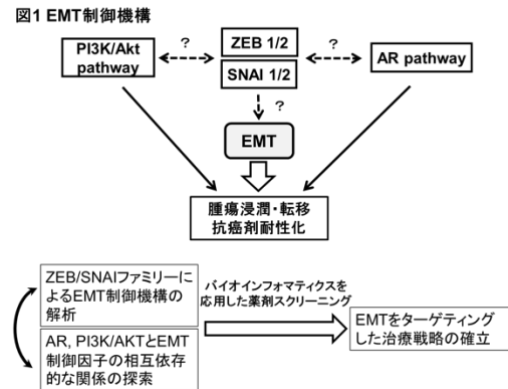
キーワード：局所進行性前立腺癌 アンドロゲン受容体 抗がん剤耐性 上皮間葉転換 精嚢浸潤 がん微小免疫環境

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は総じて進行は緩徐で数十年の経過で成長するが、一部は急速に進行して致死性的となりうる。致死的な前立腺癌とは通常内分泌療法に抵抗性を獲得した去勢抵抗性前立腺癌 (Castration Resistant Prostate Cancer; CRPC) である。ドセタキセル (DOC) 抵抗性の CRPC に対する新規治療薬として、新規内分泌療法薬エンザルタミド (ENZ) や抗癌剤カバジタキセル (CBZ) がある。これらの薬剤は本邦では 2014 年に上市されたが、全生存期間延長は限定的であり、その後の治療抵抗性 CRPC には有効な治療がなく、その克服ならびに新規治療戦略の確立は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

CRPC の細胞内においてアンドロゲン濃度は上昇しており、腫瘍の増殖、進行においてアンドロゲン受容体 (Androgen Receptor; AR) はやはり重要な標的である。腫瘍の進展には PI3K pathway, AR pathway など、また浸潤、転移には上皮間葉細胞転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition; EMT) が関与している。しかし AR と EMT 誘導転写因子との関係については明らかではない。前立腺癌において、ZEB ファミリーおよび SNAI ファミリーなどの EMT 誘導転写因子や AR との関係性を明らかにすることで、CRPC の浸潤・転移能、難治性・治療抵抗性の獲得に対する新たな治療戦略を確立できると考え、研究計画を考案した (図 1)。



3. 研究の方法

(1) DOC/CBZ 耐性モデル細胞株の遺伝子発現プロファイル解析

初期前立腺癌モデル細胞株 LNCaP, 転移性 CRPC モデル細胞株 DU145 を用いて、ZEB1 過剰発現による DOC/CBZ 感受性を細胞増殖アッセイにより評価した。

(2) AR pathway と EMT の相互依存的制御機構の解析

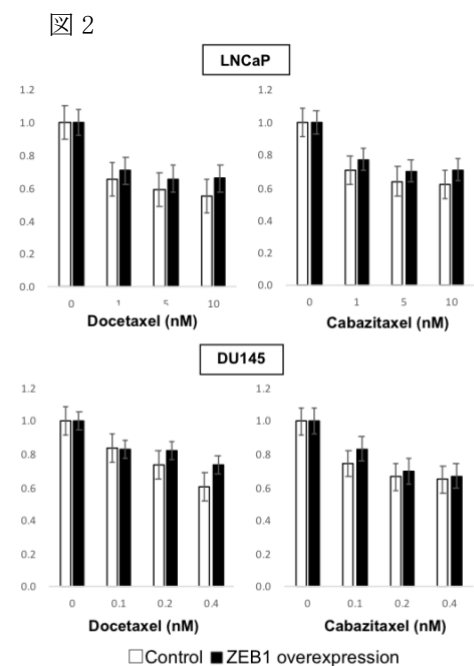
各種細胞株の AR と相互依存的な転写因子群の発現量および EMT 関連マーカー (fibronectin, vimentin, N-cadherin, E-cadherin) に変化があるか、Real-time PCR で解析した。タンパクレベルの変化について Western blot 法を用いて比較検討した。

(3) 被膜外浸潤や精嚢浸潤を伴う局所進行性前立腺癌は、治療抵抗性を獲得して去勢抵抗性前立腺癌へと進展することが多い。過去 14 年間に当院で前立腺全摘術を施行された 1240 例を対象とし、術後再発との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) LNCaP において ZEB1 過剰発現により DOC に対する感受性が低下することから、ZEB1 は DOC 耐性に関与する可能性が示唆された。AR が発現していないヒト CRPC 細胞株 DU145 においては有意差は見られなかった (図 2)。以上から ZEB1 の抗癌剤耐性に AR が関与している可能性が示唆された。

(2) LNCaP, DU145 を用いて ZEB ファミリー (ZEB1/2)、SNAI ファミリー (SNAI1/2) の発現量と、それに伴う EMT 関連遺伝子との関係を Real-time PCR により比較検討した。LNCaP において ZEB1 過剰発現により AR の発現抑制が見られた (図 3)



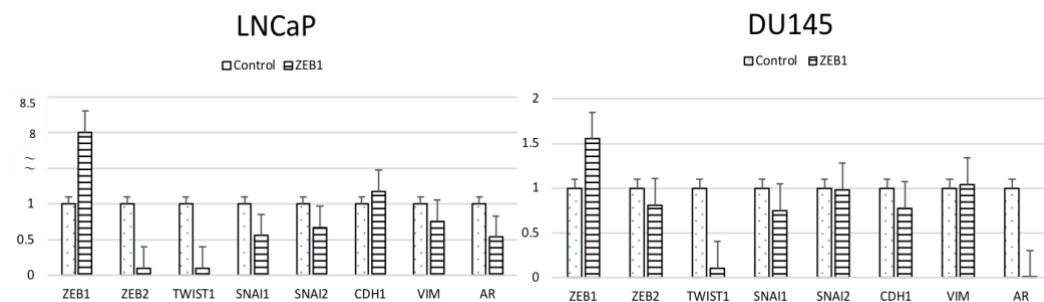


図 3

LNCaP において抗アンドロゲン薬のエンザルタミドを投与したところ、ZEB1 の発現低下を認めた。また DU145 において ZEB1 をノックダウンしたところ、AR の再発現を認めた。

(3) 精嚢浸潤陽性の 64 例 (5.2%) のうち被膜外浸潤陰性の 16 例は、被膜外浸潤陽性と比較して術後再発は有意に少なく予後良好であった (14.2 (mo) vs 61.3 (mo), HR=17.643, $p=0.002$, 図 4)。また術後再発した症例においては精嚢浸潤部の CD8 陽性 T 細胞数は有意に少なく ($p=0.015$, 図 5)、Index tumor 部と比較して精嚢浸潤部の CD8 陽性 T 細胞数が 1.5 倍以上の症例は有意に術後再発が少なかった ($p=0.018$, 図 6)。前立腺全摘標本のうち精嚢浸潤のある症例を用いて解析を行った報告はなく、今後、AR と相互依存的な転写因子群のシグナル制御機構を解明することで、浸潤・転移能、難治性・治療抵抗性の獲得に関する新たな知見となり、さらに難治性前立腺癌に対する新たな治療戦略を確立するための一助になると考える。

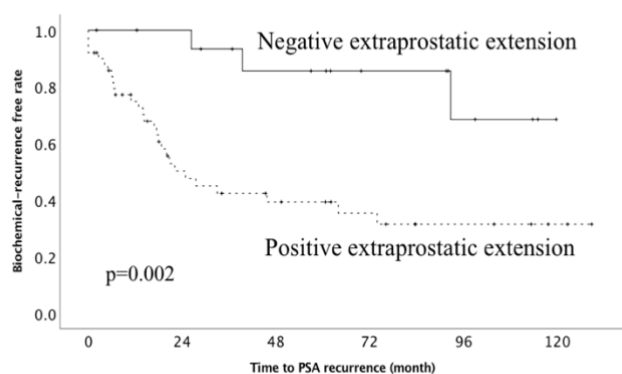


図 4

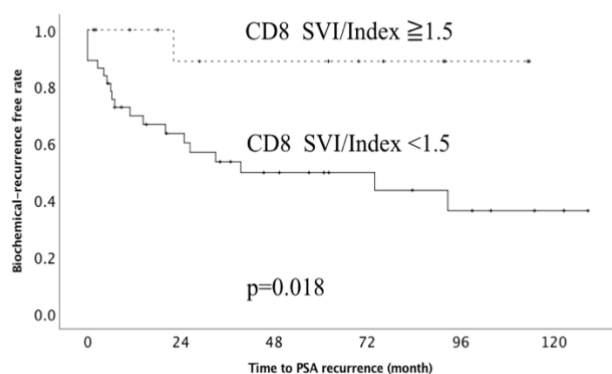
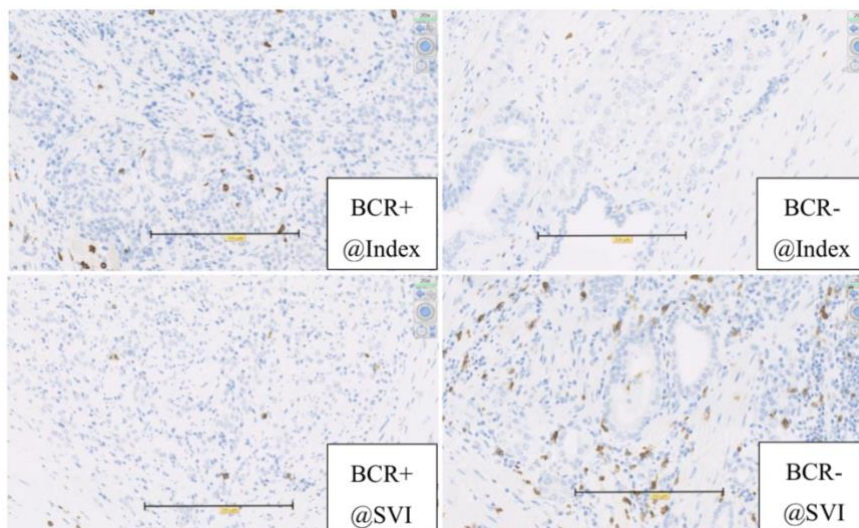


図 6

図 5



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
--	---------------------------	-----------------------	----