

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19591869  
 研究課題名（和文） 前立腺癌の血管新生におけるアンジオテンシン の機能解析  
 研究課題名（英文） Functional analysis of angiotensin II in tumor angiogenesis of prostate cancer

研究代表者  
 宮嶋 哲（MIYAJIMA AKIRA）  
 慶應義塾大学・医学部・講師  
 研究者番号：90245572

## 研究成果の概要：

ホルモン抵抗性前立腺癌に AT1R 阻害剤は血管新生を抑制することで抗腫瘍効果を発揮することを証明してきたが、Angiotensin II そのものの機能については不明である。本研究では、内分泌抵抗性を獲得するにつれ AT1R 発現、その下流では VEGF 発現に関連する転写因子（Ets-1, HIF-1 $\alpha$ ）の活性化が強まっていた。以上から前立腺癌内分泌抵抗性ととも血管新生が増強するメカニズムの一端を証明した。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：血管新生、アンジオテンシン II、受容体、前立腺癌

## 1. 研究開始当初の背景

腫瘍の増大、浸潤には血管新生が必要であり、血管新生を阻害することで腫瘍の縮小を試みた研究が近年、注目されつつある。Angiotensin 変換酵素 (ACE) 阻害剤が Neuroblastoma Cell の増殖を抑制したと報告され (Eur J Pharmacol. 195: 305-306, 1991), 高血圧で ACE 阻害剤を服用した患者で癌発生のリスクが減少していることが明らかとなり (Lancet 352: 179-184, 1998), Angiotensin II (Ang II) と癌の血管

新生の関係が注目されるようになった。Ang II 受容体のなかでも Type I 受容体 (AT1R) は血管新生に関与していることが判明した。Angiotensin II type1 受容体 (AT1R) はいくつかの癌でその発現が報告され、血管新生との関連を我々は報告してきた (Miyajima et al. Cancer Res 62: 4176-4179, 2002)。さらには AT1R を標的とした癌治療は、ほとんどなされていないのが現状であった。ホルモン抵抗性前立腺癌で AT1R 阻害剤の投与により血清前立腺特異抗原値の低下が高率に認

められたことから(Uemura et al. Prostate 66: 822-830, 2006), AT1R の複雑な生理作用に興味を持たれた。事実, われわれはマウス腎癌肺転移モデルでは劇的な転移抑制の結果を確認したことを契機に(Miyajima et al. Cancer Res 62: 4176-4179, 2002), 膀胱癌では血管新生が豊富なことから, 膀胱癌マウス皮下腫瘍モデルで AT1R 阻害剤の投与がその治療に有効なことを確認し(Kosugi et al. Clin Cancer Res, 12, 2888-2893, 2006), ホルモン抵抗性前立腺癌モデルにおいても本治療の有効性ならびに実現性を検討してきた(Kosaka et al. Prostate, 67:41-9, 2007)。しかしながら, AT1R 阻害剤の血管新生抑制効果のメカニズムは明らかにされていないのが現状であり, 今後, この治療が有効とするならば, その機構解明は必須であると考えられた。

## 2. 研究の目的

治療抵抗性である内分泌抵抗性前立腺癌における AT1R 刺激の下流シグナルを検索することにより, 内分泌抵抗性前立腺癌に対する AT1R 阻害による血管新生抑制効果における機構解明を進める。

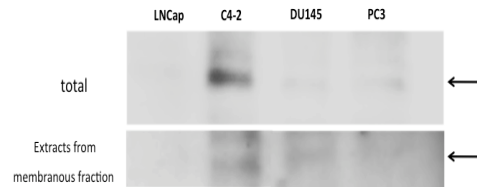
## 3. 研究の方法

- (1) 限局性前立腺癌により外科的切除された摘出標本ならびに, 内分泌不応性前立腺癌の剖検標本を収拾し, 両者における AT1R 発現の程度を免疫組織学的に検索した。
- (2) 続いて, 同じ検体にて VEGF の蛋白発現ならびに Ets-1, HIF-1 $\alpha$  などの転写因子の発現も免疫組織学的に検索した。
- (3) *in vitro* に, LNCap, その内分泌抵抗性株である C4-2, その他, DU145, PC3 の前立腺癌細胞株を用いて, AT1R の発現に関してウェスタンブロット法により定量し比較検討した。
- (4) LNCap ならびに C4-2 における Ets-1 と HIF-1 $\alpha$  の発現についてウェスタンブロット法により定量し比較検討した。
- (5) C4-2 における AII 刺激による Ets-1 と HIF-1 $\alpha$  の発現の経時的变化についてウェスタンブロット法により定量し比較検討した。
- (6) C4-2 をアンドロゲン無刺激下に培養し

続けることにより, C4-2 の細胞内環境の変化について観察した。

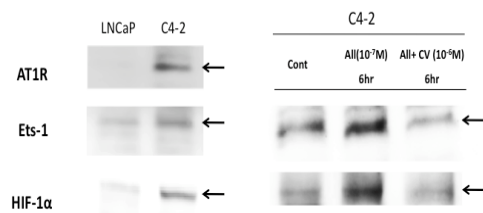
## 4. 研究成果

- (1) 臨床検体における検討では, 内分泌抵抗性を獲得することにより, MVD, VEGF 発現と AT1R の発現は有意に増強していた。この事実より, 内分泌抵抗性前立腺癌こそ AT1R 阻害の標的としうる可能性が示唆された。臨床検体における VEGF ならびに Ets-1, HIF-1 $\alpha$  の発現に関しては未だ研究続行中である。
- (2) 前立腺癌細胞レベルにおいては C4-2 の

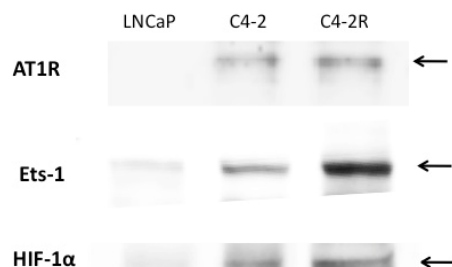


total protein ならびに membranous fraction で AT1R の発現は他の cell line より有意に増強していた。

- (3) C4-2 では LNCap に比して有意に高い Ets-1 と HIF-1 $\alpha$  の発現を認めた。また, これら転写因子の発現は AII (0.1 $\mu$ M) 投与 6 時間後に上昇し, AT1R 阻害剤(candesartan: 10 $\mu$ M) の投与により抑制された。



- (4) C4-2 をアンドロゲン無刺激下に 6 ヶ月間培養持続することにより, C4-2 における Ets-1 ならびに HIF-1 $\alpha$  の発現はさらに



増強された。

以上より、内分泌抵抗性を獲得するにつれ AT1R 発現、そして、その下流では VEGF 発現に関連する転写因子 (Ets-1, HIF-1 $\alpha$ ) の活性化が強まることが確認された。この事実から、前立腺癌の内分泌抵抗性の獲得の際には AT1R ならびにその下流の転写因子への修飾が生じていることが示唆された。これは内分泌抵抗性の獲得のメカニズムを解明する上で重要な発見と思われた。

#### 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4件、いずれも査読有り)

Kosugi M, Miyajima A, Kikuchi E, Horiguchi Y, Murai M. Angiotensin II type 1 antagonist enhances anti-cancer agent-induced cytotoxicity in a mice xenograft model of bladder cancer. Hum cell 20: 1-9, 2007.

Kosugi M, Miyajima A, Kikuchi E, Kosaka T, Horiguchi Y, Murai M, Oya M. Angiotensin II type 1 receptor antagonist enhances cis-dichlorodiammineplatinum-induced cytotoxicity in mouse xenograft model of bladder cancer. Urology, 73: 655-660, 2009.

Uchida Y, Miyajima A, Kikuchi E, Kozakai N, Kosaka T, Ieda M, Fukuda K, Ohigashi T, Oya M. Renal damage is inhibited in mice lacking the angiotensinogen gene subjected to unilateral ureteral obstruction. Urology (in press)2009

Miyajima A, Kikuchi E, Kosaka T, Oya M. Angiotensin II type 1 receptor antagonist as an angiogenic inhibitor in urogenital cancer. Reviews on Recent Clinical Trials (in press)2009

[学会発表](計4件)

Kosaka T, Miyajima A, Kikuchi E, Mikami S, Shirotake S, Hasegawa M, Oya M.: Ets-1 and HIF-1 induced by angiotensin II : novel new molecular targets of angiotensinII type-1 receptor blocker as an angiogenic inhibitor. The 105<sup>th</sup> annual meeting of American Urological Association, 2009.4.27, Chicago

Kosaka T, Miyajima A, Kikuchi E, Oya M. AngiotensinII type I antagonist prevents hormone-refractory prostate cancer by inhibiting tumor angiogenesis: 24<sup>th</sup> Annual European Association of Urology Congress, 2009.3.17, Stockholm, Sweden

城武 卓、宮嶋 哲、小坂威雄、菊地栄次、大家基嗣：前立腺癌における Angiotensin II 1型受容体を標的とした治療の試み、第9回ホルモンと癌研究会、2009.1.24、東京

小坂威雄、宮嶋 哲、菊地栄次、大家基嗣：前立腺癌における Angiotensin II 1型受容体を分子標的とした治療の試み、第12回がん分子標的治療学会、2008.6.27、東京

[図書](計1件)

宮嶋 哲 アンジオテンシン II 1型受容体を標的とした泌尿器科癌治療の試み Angiotensin Research 5: 52-56, 2008

[産業財産権]

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他] 特になし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

宮嶋 哲 (MIYAJIMA AKIRA)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号：90245572

(2)研究分担者

菊地栄次 (KIKUCHI EIJI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号：10286552  
(3)連携研究者 なし