

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09684

研究課題名(和文) 前立腺癌に対するPARP阻害剤・スタチン・プラチナ製剤併用効果の基礎的研究

研究課題名(英文) Combination therapy of PARP inhibitor, statin and platinum-containing drug for prostate cancer

研究代表者

関根 芳岳 (Sekine, Yoshitaka)

群馬大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：00516370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：先行研究にてスタチンによりDNA修復関連の遺伝子発現が低下したから、去勢抵抗性前立腺癌における、PARP阻害剤、スタチン、プラチナ製剤との併用効果を検討した。まず、3剤併用での増殖抑制効果を検討したが、スタチン+オラパリブで増殖抑制効果を認め、さらにシスプラチンの投与を追加しても、ホルモン非依存性前立腺癌細胞株の更なる増殖抑制効果は認めなかった。DNA損傷のマーカーである H2AX は、スタチン+オラパリブの併用により増加した。以上より、去勢抵抗性に対して、PARP阻害剤とスタチンのようなDNA修復遺伝子の発現を低下させる薬剤との併用が、治療選択の1つになりう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

前立腺癌患者は、日本において増加傾向にあり、新規治療の開発は急務である。PARP阻害剤は、去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療薬として注目を浴びているが、現段階では、DNA修復遺伝子変異のある患者のみが治療対象となっている。今回の研究によって、高脂血症薬として使用されているスタチンとの併用により、DNA損傷を引き起こすプラチナ製剤の併用の有無に関わらず、治療に難渋している去勢抵抗性前立腺癌に対して、治療効果がある可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Our previous study showed that statin decreased many gene expressions, which are related to DNA repair, in androgen independent prostate cancer cells. The combination of statin and PARP inhibitor further enhanced the inhibition of cell proliferation compared with treatment with either treatment alone in androgen independent prostate cancer cells, but triple-drug combination did not enhance the inhibition. The combination of statin and PARP inhibitor further enhanced the expression of H2AX, which is the marker of DNA damage, compared with treatment with either drug alone in androgen independent prostate cancer cells. These data suggested that the combination of statin and PARP inhibitor can potentially affect castration-resistant prostate cancer growth.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺癌 スタチン PARP阻害剤 プラチナ製剤 去勢抵抗性前立腺癌

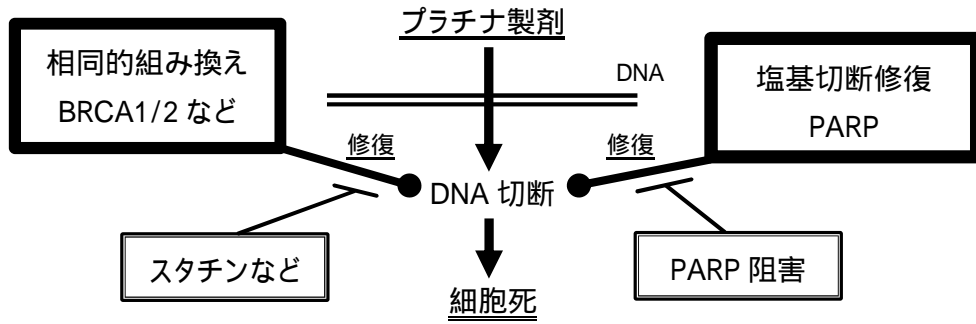
## 1. 研究開始当初の背景

我が国において近年前立腺癌は著しく増加しており、新しい治療法を導き出すことが急務である。ドセタキセル、カバジタキセルといった抗癌剤や、アピラテロン、エンザルタミドなどの新規ホルモン剤の使用が可能となったにもかかわらず、去勢抵抗性前立腺癌 (Castration Resistant Prostate Cancer; CRPC)の患者の治療に苦慮しているのが現状である。最近、新たな薬剤として、BRCA 変異細胞に対して選択的に効果のある薬剤としての PARP 阻害剤が注目されている。米国 FDA にて BRCA 変異陽性乳癌に対しての PARP 阻害剤の使用は 2014 年 12 月に承認されており、前立腺癌においても、PARP 阻害剤は、DNA 修復遺伝子変異がある患者に奏効することが報告された (Mateo J, et al. N Engl J Med. 2015)。現在、本邦でも、DNA 修復遺伝子変異が検出された去勢抵抗性前立腺癌患者に対する PARP 阻害剤の使用が可能となったが、DNA 修復遺伝子変異がある患者のみが対象で、日本人にはその変異がある患者が少ないことから、使用できる患者が少ないのが現状である。

また、我々は、平成 23-24 年度の科研費で行った、スタチン投与後のホルモン非依存性前立腺癌細胞株である、PC-3 細胞における mRNA の遺伝子変化 (マイクロアレイ) の結果についてパスウェイ解析を行ったところ、最も変化の見られた (発現が低下した) パスウェイとして、「Role of BRCA1 in DNA Damage Response」がピックアップされ、この経路は、放射線などの障害を DNA が受けた際に DNA 修復 (相同組換え) に働く遺伝子群であり、これらの遺伝子の発現が低下することで、この経路がうまく働かず、X 線や DNA 傷害性抗癌剤に対する感受性が高くなることが予想された。これまで、前立腺癌において、スタチン内服と放射線治療効果については、スタチン内服群では放射線治療後の再発が少ないこと (Gutt R, et al. J Clin Oncol. 2010、Kollmeier MA, et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011、Oh DS, et al. World J Urol. 2014) が報告されているが、そのメカニズムについての報告はほとんど行われていないことから、H28-30 年度の科研費「基盤研究 C ; 前立腺癌に対する X 線及び重粒子線治療におけるスタチン併用効果の基礎的研究」において、検討を行い、スタチンと放射線との併用により、更なるホルモン非依存性前立腺癌細胞株の細胞増殖抑制効果を引き起こすことが明らかになり、スタチンによる DNA 修復遺伝子群の抑制効果の可能性を見出した。また BRCA とは別の機序で DNA 修復に働く PARP 阻害剤を併用することで、ホルモン非依存性前立腺癌細胞株の細胞増殖抑制効果の可能性も見出した。

## 2. 研究の目的

我々は、引き続き PARP 阻害剤 (「塩基切断修復」の阻害) に注目し、そこに、スタチン (「相同的組み換え」の阻害) やプラチナ製剤 (DNA 損傷) などを併用すること (図 1) で、新規ホルモン剤や抗癌剤が効かなくなった、既存治療抵抗性前立腺癌に対する新たな治療戦略となりうるかどうか、を検討したいと考えている。この結果は、現在は、DNA 修復遺伝子変異のある患者のみが対象の PARP 阻害剤を、DNA 修復遺伝子変異のない患者にも使用が可能になるかどうかという、臨床および学術的な問いに対する答えとなり、さらに多くの患者の治療が可能となりうる。



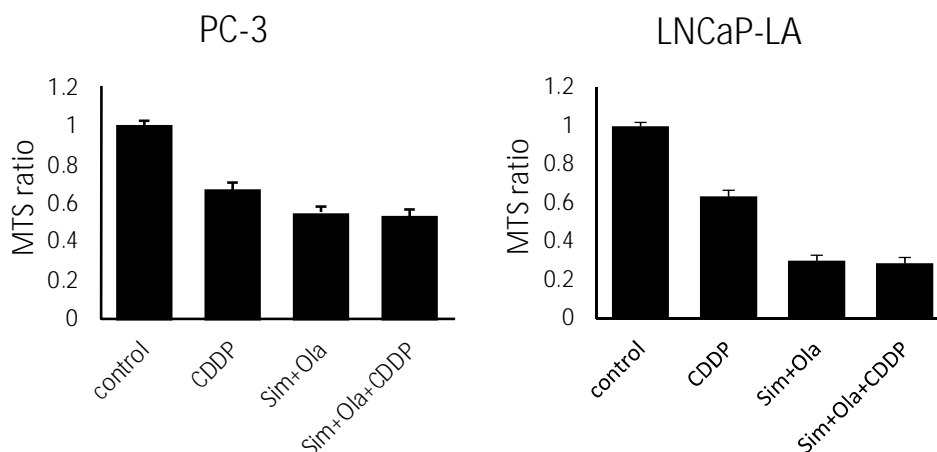
### 3. 研究の方法

前立腺癌細胞株 PC-3、22Rv1、LNCaP, charcoal stripped FBS を使用した培地にて長期培養して樹立したホルモン非依存性 LNCaP (LNCaP-LA)、当教室で樹立したカバジタキセル耐性 22Rv1 を使用した。細胞増殖は MTS アッセイにより評価した。また DNA ダメージにより二重鎖切断が生じるとヒストンタンパク質の一種である H2AX がリン酸化されることから、リン酸化 H2AX( H2AX)を DNA 損傷マーカーとして、WB にてタンパク発現を評価した。

### 4. 研究成果

MTS アッセイにてシスプラチンにて 5 μM 程度の濃度にて 70%程度の増殖抑制効果を認めたことから、スタチン+オラパリブの併用療法に、さらにシスプラチンを追加することで、増殖抑制効果が相乗効果として現れるかを、同様に MTS アッセイにて検討したところ、スタチン+オラパリブで増殖抑制効果を元々認めることもあり、スタチン+オラパリブに、更なるシスプラチンの投与を追加しても、ホルモン非依存性前立腺癌 PC-3 細胞や当教室で樹立したホルモン非依存性 LNCaP 細胞(LNCaP-LA)において、更なる増殖抑制効果は、明らかには認めなかった(図1)。

<図1> PC-3 及び LNCaP-LA 細胞における、シンバスタチン、オラパリブ、シスプラチンの併用による細胞増殖抑制効果

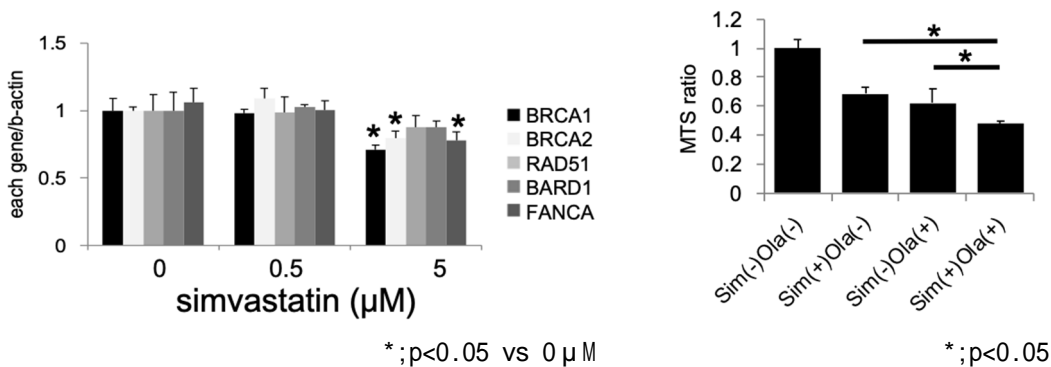


CDDP ; シスプラチン、Sim ; シンバスタチン、Ola ; オラパリブ  
PC-3 ; 投与後 72 時間、LNCaP-LA ; 投与後 96 時間

上記結果より、スタチン+オラパリブで検討を進めた。去勢抵抗性前立腺癌の治療としては、エンザルタミドやアピラテロンなどの新規ホルモン剤と、ドセタキセルやカバジタキセルなどの抗癌剤が挙げられ、抗癌剤抵抗性前立腺癌への効果を確認するため、当教室で樹立したカバジタ

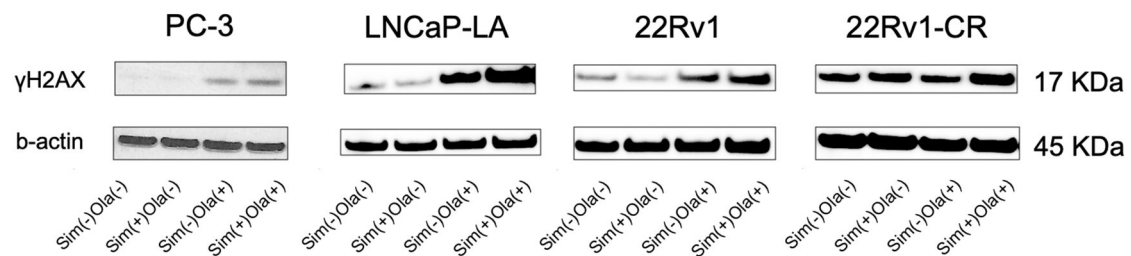
キセル耐性 22Rv1 に対して、同様の効果があるのかも検討した。シンバスタチンは BRCA1/BRCA2/FANCA の遺伝子発現を低下させ、オラパリブとの併用で更なる増殖抑制効果を認めた (図 2)。

<図 2> カバジタキセル耐性 22Rv1 における、シンバスタチン投与 48 時間後の mRNA、及びシンバスタチンとオラパリブの併用効果 (投与後 96 時間)



また DNA ダメージにより二重鎖切断が生じるとヒストンタンパク質の一種である H2AX がリン酸化されることから、リン酸化 H2AX (γH2AX) は DNA 損傷のマーカーと使用されるが、PC-3、LNCaP-LA、カバジタキセル耐性 22Rv1 において、スタチン+オラパリブの併用により、control やそれぞれ単剤と比較して、γH2AX が増加した (図 3)。

<図 3> ホルモン非依存性前立腺細胞株及びカバジタキセル耐性 22Rv1 における、シンバスタチンとオラパリブの併用後 48 時間の H2AX 発現



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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------