

令和 6 年 5 月 4 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09586

研究課題名(和文) マイクロRNAの発現解析を用いた前立腺神経内分泌癌の発生メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the developmental mechanism of prostate neuroendocrine cancer using microRNA expression analysis

研究代表者

小島 聡子 (KOJIMA, SATOKO)

帝京大学・医学部・客員准教授

研究者番号：10345019

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌は通常ホルモン感受性癌で、アンドロゲン除去療法によく奏功するが時間とともにホルモン抵抗性の癌になる。近年、機能性RNA分子の中で、マイクロRNAが前立腺癌においても、癌抑制遺伝子として機能重要な役割を果たしていることがわかってきた。これまで我々はmiR-455-5pがPirin, IGFBP-3, LRP8などの癌抑制遺伝子の発現を抑制し、前立腺癌の増殖、浸潤を促すことを発見した。今回の研究では進行性前立腺癌において、IGFBP-3の発現が高いと予後が悪いことが示された。去勢抵抗性前立腺癌になってからIGFBP-3の発現が強くなる傾向を認め、前立腺癌の進展に寄与する機構が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌は早期癌であれば長期の予後が得られるが、再発再燃する場合がある。前立腺癌は通常ホルモン感受性癌で、アンドロゲン除去療法によく奏功するが、治療を長期に続けるにつれてホルモン抵抗性の癌になる。転移性前立腺癌の予後は、治療開始からホルモン再燃癌(去勢抵抗性前立腺癌)になるまで2年程度であったが、近年、新規ホルモン療法薬や抗癌剤の適応により、3～5年と以前に比べて再燃までの期間が延長され、長期の予後が期待されるようになった。しかし、いずれの治療も奏功せず、2～3年以内に死亡する症例も少なからず存在する。本研究で新たな分子学的アプローチが解明されればさらなる前立腺癌の予後の改善が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Prostate cancer is usually a hormone-sensitive cancer that responds well to androgen deprivation therapy, but over time it becomes a hormone-resistant cancer, and its causes and mechanisms are still under investigation. In recent years, it has been found that among functional RNA molecules, microRNAs (microRNAs) play an important role as tumor suppressor genes even in prostate cancer. So far, we have discovered that miR-455-5p suppresses the expression of tumor suppressor genes such as Pirin, IGFBP-3, and LRP8, and promotes prostate cancer proliferation and invasion. In this study, the expression of IGFBP-3 was examined by immunostaining in advanced prostate cancer, and it was shown that those with high expression were associated with poor prognosis. A tendency for IGFBP-3 expression to become stronger after castration-resistant prostate cancer was observed, suggesting a mechanism contributing to the progression of prostate cancer.

研究分野：前立腺癌

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 マイクロRNA IGFBP-3

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 前立腺癌は通常ホルモン感受性癌であるが、去勢後約 1~2 年で去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) となり治療に抵抗性になることが知られている。2014 年以降 CRPC の治療として、アンドロゲンの合成阻害薬、第 2 世代の抗アンドロゲン薬や、BRCA2 遺伝子の変異が存在する場合は PARP 阻害薬など、新規に開発された薬剤が使用可能となった。その結果、CRPC までの期間は 3~5 年と長くなり、予後の延長も認められるようになった。しかし、癌細胞がアンドロゲン感受性を完全に失った場合、その代替となる新規の治療法は、現在ドセタキセルなどの抗癌剤による治療に限定される。未だ、前立腺癌細胞がどのような分子ネットワークを駆使して、増殖・転移を起こすのか明らかになっておらず、その解明のために、CRPC の臨床検体を用いた解析が必要である。CRPC 患者の臨床検体へのアクセスは大変難しいが、CRPC で活性化している分子ネットワークを明らかにする事が CRPC への進展機序を解明するためには重要な手段である。CRPC となり亡くなられた患者様の組織検体を用いて、これまで網羅的に遺伝子解析を行ってきた (Br. J. Cancer 2015,113 Goto et al)。

(2) 近年、機能性 RNA 分子の中で、マイクロ RNA とよばれる 19-23 塩基の小さな RNA が発生・分化などの過程に多大な影響を及ぼす事が報告され注目されている。前立腺癌においても、癌抑制遺伝子として機能するマイクロ RNA が癌の進行において重要な役割を果たしていることがわかってきた。そのなかで、miR-455-5p が Pirin, IGFBP-3, LRP8 などの癌抑制遺伝子の発現を抑制し、前立腺癌の増殖、浸潤を促すことを発見した。IGFBP-3 は研究者がバンクーバーに留学中、研究していた分子で、前立腺癌細胞において去勢後発現が高まり、何らかの癌抑制機構を有する因子として注目していた分子である。

## 2. 研究の目的

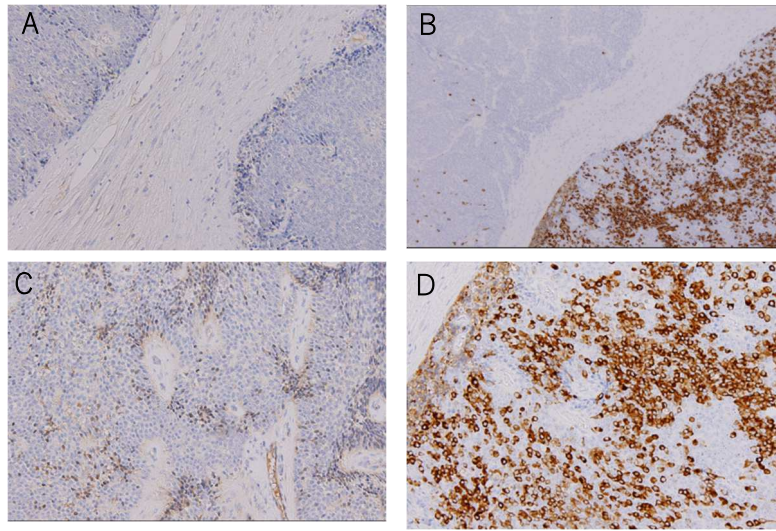
- (1) 転移性前立腺癌に発現する IGFBP-3 の発現量を組織学的および血液中に同定し、神経内分泌癌との相関があるか検討する。
- (2) 進行に従い、IGFBP-3 の発現量が増えるか検討する。
- (3) IGFBP-3 の発現と予後との相関を検討する。

## 3. 研究の方法

- (1) CRPC となって再生検を行った検体や、初期から悪性度や進展度が強い患者さんの生検検体を用いて、IGFBP-3 の組織免疫染色を行う。
- (2) 転移性前立腺癌に発現する IGFBP-3 と NSE, ProGRP の発現量を血清中に ELISA にて同定し、神経内分泌癌との相関があるか検討する。

## 4. 研究の成果

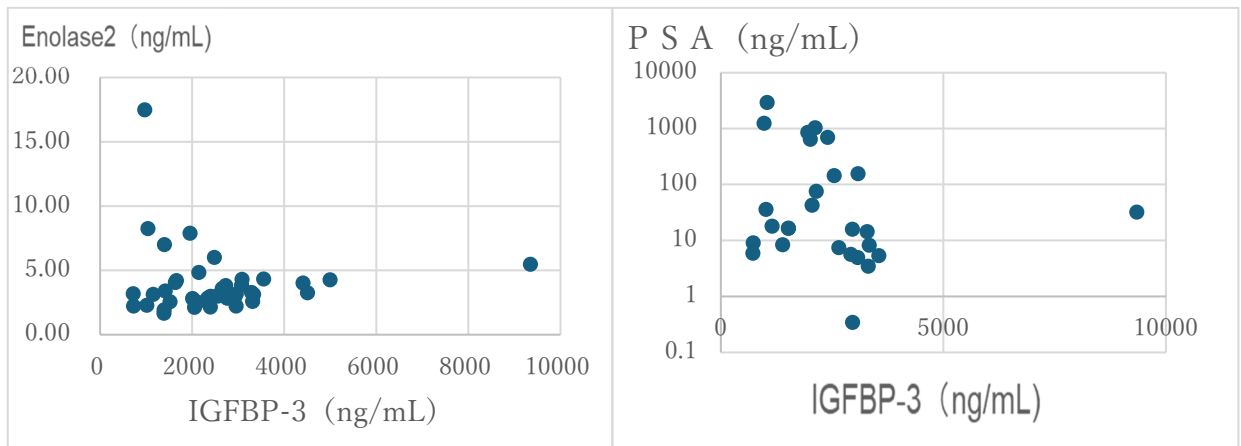
- (1) 前立腺癌患者の生検組織における IGFBP-3, NSE, PSA の発現の比較



A、CはIGF-BP-3の組織免疫染色、BはSynaptophysin、CはPSAの組織免疫染色を示す。Synaptophysinは、神経内分泌癌細胞のマーカーとなるタンパクであり、右側の組織は前立腺癌の神経内分泌癌であることが示される。AはIGFBP-3による免疫染色であるが、はほとんど染まらないのに対し、Bでは右側の腫瘍組織にSynaptophysinが強陽性を示している。このことから、IGFBP-3と神経内分泌癌の間には明らかな関連はないことが示唆された。また、DにおけるPSAの発現とCのIGFBP-3の発現している細胞の分布が異なっており、IGFBP-3はPSAの発現を失ったホルモン非依存性癌であり、かつ神経内分泌化とは異なる機序のホルモン耐性を獲得した細胞と考えられた。

#### (2) 前立腺癌患者の血清中IGFBP-3とNSEの発現の比較

血清IGFBP-3の計測にはQuantkine ELISA Human IGFBP-3 (R&D SYSTEMS)を使用した。血清NSE (Enolase2)の計測にはQuantkine ELISA Human Enolase2/Neuron specific Enolase (R&D SYSTEMS)を使用した。結果として、血清中のIGFBP-3とEnolase (NSE)の発現量に相関は認めなかった。また、血清中のIGFBP-3とPSAの間にも相関は認めなかった。



以上の結果から、組織学的所見のデータが血清中の発現タンパク量から裏付けされた。

(3) 未治療前立腺癌における IGFBP-3 の発現と神経内分泌マーカーの発現の経時的比較  
 未治療の転移性前立腺癌 17 例を免疫染色を行い、IGFBP-3, Synaptophysin, クロモグラニン A, CD56, NSE の免疫染色を行い、神経内分泌化癌の有無を検討した。また、再燃時に生検を施行した 8 例においては治療前の治療後に比較して IGFBP-3 と神経内分泌マーカーの発現の推移を比較検討した。

		NE (-)	NE (+)	
IGFBP-3	(-)	6 (1)	0	6
IGFBP-3	(+)	4 (4)	7	11
		10	7	17
( )は再燃時NE陽性例				

		NE (-)→(+)	NE (+)→(-)	NE (+)→(+)	
IGFBP-3	(+)→(+)	4	1	1	6
IGFBP-3	(+)→(-)	0	1*	0	1
IGFBP-3	(-)→(+)	1	0	0	1
		5	2	1	8
(*例は臨床的にNE)					

未治療の転移性前立腺癌における IGFBP-3 の陽性率は 23%、神経内分泌化 (NE) 陽性は 41% であった。NE マーカー陽性例はすべて IGF-BP3 も陽性であったことから、進行例では NE 化や IGFBP-3 を経由した癌の進展経路が活性化していることが示唆された (表 1)。経時的に観察できた 8 例においては、初診時に IGFBP-3 陽性であった 4 例中、NE マーカー陽性は 42% であった。残りの 57% は再燃時には NE 陽性となったことから、やはり進行するに従い NE 陽性になることが示唆された。また、初診時に IGFBP-3 陰性であった 1 例は、NE も陰性であったが、再燃時には IGFBP-3 も NE もともに陽性となった。以上の結果から、やはり、臨床症例においても IGFBP-3 と NE マーカーは進行に従って陽性化するが、かならずしも発現パターンは同じタイミングでは陽性化しないことが示唆された。

## 5. 結語

去勢抵抗性前立腺癌への進展メカニズムとして、マイクロ RNA (miR-455-5p) の発現が減少することで IGFBP-3 の発現が高くなり、癌の進行を促進することが示唆された。神経内分泌化と同時並行的に出現する現象でもあるが、必ずしもその発現は NE 細胞と同等ではなく、別々の機序である

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Shimizu Nobuhiko, Naya Yukio, Sekine Keita, Hou Kyokushin, Okato Atsushi, Suyama Takahito, Araki Kazuhiro, Masuda Hiroshi, Kojima Satoko	4. 巻 6
2. 論文標題 Laparoscopic redo pyeloplasty with a buccal mucosal graft	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IJU Case Reports	6. 最初と最後の頁 124 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iju5.12567	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 MASUDA HIROSHI, SHIMIZU NOBUHIKO, SEKINE KEITA, OKATO ATSUSHI, HOU KYOKUSIN, SUYAMA TAKAHITO, ARAKI KAZUHIRO, KOJIMA SATOKO, NAYA YUKIO	4. 巻 37
2. 論文標題 Efficacy and Safety of Tolvaptan for Patients With Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease in Real-world Practice: A Single Institution Retrospective Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 801 ~ 805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/invivo.13144	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Shimizu N, Naya Y, Sekine K, Hou K, Okato A, Suyama T, Araki K, Masuda H, Kojima S.	4. 巻 19;6(2)
2. 論文標題 Laparoscopic redo pyeloplasty with a buccal mucosal graft.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IJU Case Rep.	6. 最初と最後の頁 124-127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iju5.12567.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Masuda H, Mikami K, Otsuka K, Hou K, Suyama T, Araki K, Kojima S, Naya Y.	4. 巻 94(4)
2. 論文標題 The choice of therapeutic agent in female overactive bladder patients in real-world practice.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 .Arch Ital Urol Androl.	6. 最初と最後の頁 451-454
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4081/aiua.2022.4.451.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Masuda H, Mikami K, Otsuka K, Hou K, Suyama T, Araki K, Kojima S, Naya Y.	4. 巻 94(4)
2. 論文標題 Outcomes of dutasteride discontinuation in patients with benign prostatic hypertrophy.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arch Ital Urol Androl.	6. 最初と最後の頁 521-524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4081/aiua.2022.4.521.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Satoko Kojima, Hiroshi Masuda, Takahito Suyama, Kyokushin Hou, Kousuke Mikami, Kazuhiro Araki, and Yukio Naya	4. 巻 PMID: 33898066
2. 論文標題 High Serum Alkaline Phosphatase Flare after First-Line Androgen Deprivation Therapy Predicts Poor Prognosis in Metastatic Prostate Cancer Patients Treated with Second-Generation Androgen Receptor Targeted Therapy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Prostate Cancer	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2021/5574067.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mikami K, Kojima S, Shimizu N, Otsuka K, Hou K, Suyama T, Araki K, Masuda H, Fugo K, Yamazaki K, Naya Y.	4. 巻 67 (10)
2. 論文標題 Adult Prepubertal-Type Teratoma Diagnosed Using Fish Analysis : A Case Report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hinyokika Kiyo	6. 最初と最後の頁 471-474
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14989/ActaUrolJap_67_10_471	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 -

1. 著者名 Suyama, T. Kanesaka, M. Fujimoto, A. Otsuka, K. Hou, K. Araki, K. Masuda, H. Kojima, S. Yamazaki, K. Naya, Y.	4. 巻 4
2. 論文標題 False-positive (123)I-metaiodobenzylguanidine scan in a patient with renal cell carcinoma: A case of chromophobe renal cell carcinoma oncocytic variant with a complicated clinical course	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJU Case Rep	6. 最初と最後の頁 39-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iju5.12233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamada, Y. Nohata, N. Uchida, A. Kato, M. Arai, T. Moriya, S. Mizuno, K. Kojima, S. Yamazaki, K. Naya, Y. Ichikawa, T. Seki, N.	4. 巻 111
2. 論文標題 Replisome genes regulation by antitumor miR-101-5p in clear cell renal cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 1392-1406
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小島 聡子, 三神 功亮, 大塚 耕太郎, 清水 信彦, 芳生 旭辰, 巢山 貴仁, 荒木 千裕, 増田 広, 納谷 幸男
2. 発表標題 ALP flareのmCRPC治療効果予測因子としての意義
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小島聡子、横川徳造、三神功亮、大塚耕太郎、芳生旭辰、巢山貴仁、荒木千裕、増田広、納谷幸男
2. 発表標題 Low-volumeの転移性前立腺癌に対する原発巣への放射線照射の有用性
3. 学会等名 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

〔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
---------	---------