

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：12501

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22970

研究課題名(和文) 前立腺癌の神経依存的去勢抵抗性増殖のメカニズムの解明

研究課題名(英文) Identification of mechanism of castration resistant growth of prostate cancer cells by innervation

研究代表者

五島 悠介 (GOTO, YUSUKE)

千葉大学・大学院医学研究院・助教

研究者番号：00710576

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、前立腺癌における神経支配による去勢抵抗性増殖の詳細なメカニズム解明と、シグナル遮断による新規治療の探索を目的とした。ホルモン感受性前立腺癌細胞株LNCaPを去勢環境下におき、RNAを抽出し網羅的RNA発現解析を行った。機能性RNAを抽出し、データベース解析を行い、ムスカリン受容体を制御する機能性RNAを抽出した。候補の機能性RNAを前立腺癌細胞株に核酸導入し、ムスカリン受容体発現変化が見られることを確認した。以上より、去勢下におけるムスカリン受容体発現変化の原因の一つとして、機能性RNA発現変化が考えられることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

神経依存的去勢抵抗性前立腺癌増殖のメカニズムとして、機能性RNAの発現異常が関与していることを見出した。臨床において、去勢抵抗性前立腺癌の治療に難渋することは少なくなく、アンドロゲン非依存的な前立腺癌増殖の一つの機序が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：The aim of study was to find novel mechanisms of innervation-driven castration resistant growth of prostate cancer. LNCaP was cultured under castrated condition, and RNA-seq was performed. Functional RNA was extracted, and we performed database analysis to find functional RNA that regulates muscarinic receptors. We found that aberrant expression of functional RNAs lead to aberrant expression of muscarinic receptors.

研究分野：泌尿器腫瘍学

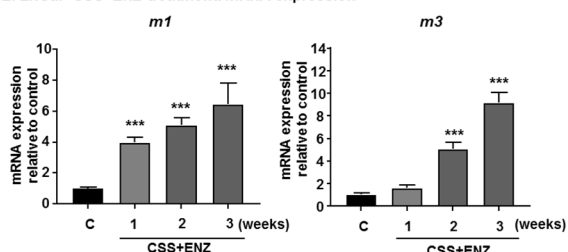
キーワード：前立腺癌 去勢抵抗性前立腺癌 神経依存的増殖

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

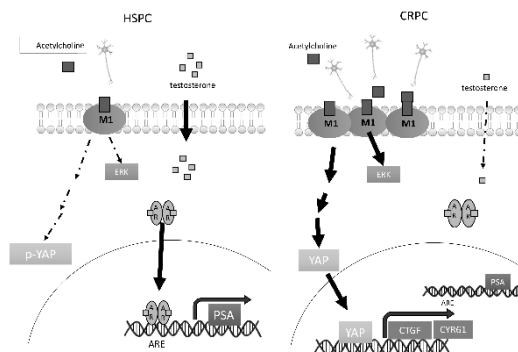
### 1. 研究開始当初の背景

現在、去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) の患者の治療法は限られており、癌細胞の進展や転移の制御は困難を極める。CRPC 新規治療法の開発には、去勢抵抗性増殖のメカニズムの解明が重要である。

E. LNCaP CSS+ENZ treatment: mRNA expression



申請者の先行研究では、去勢状態の前立腺癌のアンドロゲン受容体 (AR) を介さない増殖経路の一つとして、ムスカリン受容体からのシグナル利用があると仮定した。その根拠としては、ムスカリン受容体 m1, m3 は前立腺癌で他癌種と比べて有意に高発現していること (n=52438) さらに、CRPC ではホルモン感受性前立腺癌 (HSPC) と比較して有意に m1, m3 のコピー数増幅が見られたこと (n=1487; 上図) があり、これらは CRPC におけるムスカリン受容体の重要な役割を示唆している。in vitro で検証するため、LNCaP を Charcoal Stripped Serum (CSS) + Enzalutamide (ENZ) 10  $\mu$ M 下で培養し、m1, m3 の mRNA 発現を測定すると、いずれも次第に発現が亢進した (左図)。さらに、m1, m3 のリガンドであるカルバコールを添加すると、CRPC 細胞株 (22Rv1, PC3) では CSS 下で去勢抵抗性増殖を来した。LNCaP では増殖が見られなかったが、CSS + ENZ 下で 1 週間培養すると、リガンドによる去勢抵抗性増殖能を獲得した。以上結果より、前立腺癌細胞において、去勢下では m1, m3 発現が亢進すること、去勢下ではリガンド添加で去勢抵抗性増殖を来すことが示された。さらに、これらの下流シグナルとして、FAK を介した YAP 活性化を同定し、CRPC の AR を介さない新たな増殖経路として、ムスカリン受容体-FAK-YAP シグナルを見出した (右図)。



### 2. 研究の目的

本研究では、前立腺癌における神経支配による去勢抵抗性増殖の、より詳細なメカニズム解明と、シグナル遮断による新規治療の探索を目的とした。

### 3. 研究の方法

(i) LNCaP 等 HSPC 細胞株を用い、癌細胞株レベルでの機能性 RNA 発現変化を、次世代シーケンサーを用いて確認する。(ii) この結果を、申請者がすでに報告した、CRPC 臨床検体での機能性 RNA プロファイルと比較し、臨床的にも有意な機能性 RNA を抽出する。(iii) ムスカリン受容体発現を制御しうる機能性 RNA を見出し、mRNA 発現を直接制御するか確認する。

### 4. 研究成果

ホルモン感受性前立腺癌細胞株 LNCaP を去勢環境下におき、RNA を抽出し網羅的 RNA 発現解析を行った。機能性 RNA を抽出し、データベース解析を行い、ムスカリン受容体を制御する機能性 RNA を抽出した。候補の機能性 RNA を前立腺癌細胞株に核酸導入し、ムスカリン受容体発現変化が見られることを確認した。

以上より、去勢下におけるムスカリン受容体発現変化の原因の一つとして、機能性 RNA 発現辺変化が考えられることを見出した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Okada Reona, Goto Yusuke, Yamada Yasutaka, Kato Mayuko, Asai Shunichi, Moriya Shogo, Ichikawa Tomohiko, Seki Naohiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Regulation of Oncogenic Targets by the Tumor-Suppressive miR-139 Duplex (miR-139-5p and miR-139-3p) in Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 599 ~ 599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines8120599	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 五島 悠介
2. 発表標題 Muscarinic receptors promote castration resistant growth of prostate cancer through a FAK-YAP signaling axis
3. 学会等名 第108回 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021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
---------	---------