

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 3 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21592048

研究課題名（和文） ホルモン不応性前立腺癌におけるガラクトース結合レクチンの腫瘍制御機構の解明

研究課題名（英文） Mechanism of tumor regulation by galactose-binding protein in hormone refractory prostate cancer

研究代表者：福森 知治（ FUKUMORI TOMOHARU ）

徳島大学・病院・講師

研究者番号：10314874

研究成果の概要（和文）：ガレクチン-3はホルモン不応性前立腺癌で強発現しており、ホルモン不応性前立腺癌細胞株のPC-3ではガレクチン-3の発現とアンドロゲンレセプターの発現に負の相関を認めた。ガレクチン-3はミトコンドリア膜を安定化させカスパーゼ3の活性を抑制することで、シスプラチンによるアポトーシス抵抗性と放射線治療抵抗性に関与していた。以上よりガレクチン-3はホルモン、抗がん剤、放射線治療抵抗性に関与し治療ターゲットとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Galectin-3, has been strongly expressed in hormone-refractory prostate cancer, showed a negative correlation between expression of androgen receptor and galectin-3 in hormone-refractory prostate cancer cell line PC3. Galectin-3 was involved in resistance to apoptosis induced by platinum-based drug and radio therapy through the suppression of the caspase-3 activity and stability of the mitochondria. Galectin-3 is a target protein involved in the resistance of hormone therapy, chemotherapy and radiotherapy in hormone-refractory prostate cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：前立腺癌・ガレクチン-3・ホルモン不応性・ホルモン受容体・遺伝子治療

1. 研究開始当初の背景

ホルモン不応性前立腺癌は完治を得る治療

法がまだ確立されておらず、泌尿器科医がブレイクスルーすべき重要な問題の1つである。

ホルモン不応性前立腺癌の最大の問題点は、腫瘍細胞がホルモン治療に耐性を獲得し、ホルモン治療のみならず抗がん剤や放射線療法に抵抗性であることが挙げられる。そのため、前立腺癌細胞のホルモン耐性獲得を制御し、さらに抗がん剤や放射線療法の感受性を高めることが治療戦略上きわめて重要である。われわれは癌の浸潤・転移に重要なキータンパクの1つであり、腫瘍細胞に血管新生を誘導し、アポトーシスを制御するガラクトース結合レクチンの1つであるガレクチン-3が、1) ホルモン非感受性前立腺癌細胞株に強発現する一方で、ホルモン感受性前立腺癌細胞株に発現していないこと、さらに、2) ガレクチン-3を発現していないホルモン感受性前立腺癌細胞にガレクチン-3を強発現させるとシスプラチン等の抗がん剤に耐性を獲得することに注目し (Fukumori T et.al. Cancer Research 66: 3114-3119, 2006、Fukumori T et.al. Drug Resistant Updates 10: 101-108, 2007)、ホルモン感受性前立腺癌とホルモン不応性前立腺癌に対するガレクチン-3の発現と放射線療法および化学療法の感受性に及ぼす影響を *in vitro* およびマウスモデルで分子生物学的に検討することに至った。さらにガレクチン-3の発現を制御するブロッキング抗体を構築し、ガレクチン-3をターゲットにした遺伝子治療への応用を試みた。

2. 研究の目的

ホルモン不応性前立腺癌に対して、ガラクトース結合レクチンの1つであるガレクチン-3が、ホルモン耐性の獲得および抗がん剤、放射線治療抵抗性の獲得にいかに関与しているかを *in vitro* および前立腺癌マウス転移モデルで評価し、その分子メカニズムについて検討する。さらにガレクチン-3をブロックする抗体を作成し、ガレクチン-3を標的とした抗体治療の効果を検討する。

3. 研究の方法

- ① Real-time PCR 法を用いて、ホルモン感受性前立腺癌およびホルモン非感受性前立腺癌のガレクチン-3の発現を検討する。
- ② siRNAによるガレクチン-3ノックアウト細胞株の樹立 (PC-3-Gal del) する。
- ③ ガレクチン-3ノックアウト細胞株 (PC-3-Gal del) に対する放射線、化学療法の影響とその作用機序をガレクチン-3強発現細胞株 (PC-3) と比較検討する。
- ④ マウス前立腺癌転移モデルによるガレクチン-3ノックアウト細胞株に対する放射線、化学療法の影響を検討する
- ⑤ ガレクチン-3のブロッキング抗体の作成し、その治療効果を検討する。

4. 研究成果

- ① ホルモン不応性前立腺癌ではホルモン感受性前立腺癌よりガレクチン-3が約1.7倍強発現していた。さらに免疫染色ではガレクチン-3は主に細胞質に局在した。
- ② siRNAを使用して、ガレクチン-3強発現細胞株 (PC3 および DU145) からガレクチン-3をノックアウトし、ガレクチン-3の発現を10分の1以下に抑えられた細胞株を構築した。
- ③ ガレクチン-3強発現細胞 (PC3) ではガレクチン-3をノックアウト細胞と比較してアンドロゲンレセプター、グルココルチコイドレセプターの発現が低い傾向があった。
- ④ ガレクチン-3強発現細胞ではシスプラチンにより誘導されるアポトーシスに有意に抵抗性であった (sub G1期の割合が11.2% vs 45.5%)。
- ⑤ ガレクチン-3強発現細胞ではシスプラチン投与時にミトコンドリア膜が安定化され、カスパーゼ3の活性が抑制された。
- ⑥ ミトコンドリア関連分子 (Bcl-2、Bax) およびMAPK、Aktの発現およびリン酸化の程度

には有意差を認めなかった。

⑦ ガレクチン-3 強発現細胞 (PC3) では放射線照射により誘導されるアポトーシスに対してカスパーゼ 3 の活性を抑制することで抵抗性を示す傾向があった。

⑧ ガレクチン-3 の発現を抑えるブロッキング抗体では siRNA ほどのガレクチン-3 抑制効果は認めなかった。

これらの結果より、ホルモン不応性前立腺癌細胞において、ガレクチン-3 は抗がん剤の耐性に関与し、ホルモン不応性および放射線治療抵抗性に影響を及ぼしていることが示唆された。本研究の結果より、ガレクチン-3 をターゲットとした遺伝子治療の可能性が示唆された。

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 3 件)

① Sakaki S, Fukumori T, Fukawa T, Essam Elsamman, A Shiirevnyamba, Nakatsuji H, Kanayama H Clinical significance of Galectin-3 in clear cell renal cell carcinoma. The Journal of Medical Investigation (査読有) 57・1,2, 2010、152-157
http://medical.med.tokushima-u.ac.jp/jmi/vol57/pdf/v57_n1-2_p152.pdf

② Koizumi T, Nakatsuji H, Fukawa T, Shiirevnyamba A, Fukumori T, Takahashi M, Kanayama H: The Role of Actinin-4 in Bladder Cancer Invasion The Role of Actinin-4 in Bladder Cancer Invasion UROLOGY、(査読有) 75、2010、357-364
DOI: 10.1159/000224877

③ Nakanishi R, Oka N, Nakatsuji H, Koizumi T, Sakaki M, Takahashi M, Fukumori T, Kanayama H: Effect of Vascular Endothelial Growth Factor and Its Receptor Inhibitor on Proliferation and Invasion in Bladder Cancer. Urologia Internationalis (査読有) 83、2009、98-106
DOI: 10.1159/000224877

[学会発表] (計 10 件)

① 中達 弘能、The involvement of TLR4 on the increase of invasion and proliferation ability in bladder cancer treated 日本癌学会学術総会、2011.10.4、名古屋コンgresセンター (名古屋市)

② S Avirmed、Enhancement of osteoclastogenic activity in osteolytic prostate cancer cells by physical contact with osteoblasts、AUA、2011.5.17、Washington Convention center (アメリカワシントン)

③ アビルメド・シーレンヤンバ、Participation of N-caderin in bladder cancer 日本泌尿器科学会総会、2011.4.24、名古屋国際会議場(名古屋市)

④ 中達弘能、HGF による膀胱がん浸潤亢進における Toll like receptor 4 (TLR4) の関与 日本泌尿器科学会総会、2011.4.23、名古屋国際会議場(名古屋市)

⑤ S Avirmed、MicroRNAs are reproducibly deregulated in prostate carcinoma and are potential regulators of signal transduction pathways like PI3-kinase or MAP-kinase pathways、EAU、2011.3.20、

Austria Centre Vienna (ACV)

⑥ アビルメド・シーレンヤンバ、Participation of N-cadherin in bladder Cancer 泌尿器科分子・細胞研究会、2011.3.12、ホテルグリーンパーク津(津市)

⑦ アビルメド・シーレンヤンバ、Change of gene expressions of prostate cancer cells by direct contact with osteoblasts 日本泌尿器科学会、2010.4.27、盛岡市民ホールいわて県民情報交流センター(盛岡市)

⑧ 中達弘能、The Involvement of Actinin-4 in Bladder cancer Metastasi 日本癌学会学術総会、2009.10.3、パシフィコ横浜(横浜市)

⑨ 小泉貴裕、膀胱癌の浸潤・増殖に対する Actinin-4の生物学的機能の検討 日本泌尿器科学会総会、2009.4.18、岡山コンベンションセンター(岡山市)

⑩ 山口邦久、腎虚血一再灌流障害に対する Hif-1 α (hypoxia inducible factor-1 α) が与える影響に関する検討 日本泌尿器科学会総会、2009.4.16、岡山コンベンションセンター(岡山市)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福森 知治 (FUKUMORI TOMOHARU)
徳島大学・病院・講師
研究者番号：10314874

(2) 研究分担者

金山 博臣 (KANAYAMA HIRO-OMI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・教授
研究者番号：10214446

高橋 正幸 (MASAYUKI TAKAHASHI)
徳島大学・大学院ヘルスバイオサイエンス研究部・講師
研究者番号：50325255

中達 弘能 (NAKATSUJI HIROYOSHI)
徳島大学・病院・助教
研究者番号：50437638

(3) 連携研究者

無