

令和 6 年 4 月 9 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09423

研究課題名(和文) 治療抵抗性前立腺癌における癌化-ステロイドシグナルaxisの機構解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of oncogenic-steroid signaling axis in hormone therapy-resistant prostate cancer

研究代表者

小林 泰之 (Kobayashi, Yasuyuki)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：50366027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：ホルモン治療抵抗性前立腺癌の機序はステロイドレセプターを介するものが主体であり、さらなる知見の集積が求められている。発癌の過程においてREIC/Dkk-3の発現低下が極めて重要な因子になることに着目してきた。REIC/Dkk-3に結合するタンパク質としてSGTAとTCTX-1を発見し、それらの相互作用が未熟なステロイドレセプター複合体の成熟を制御している可能性を見出している。これらの知見を踏まえ、本研究では、治療抵抗性前立腺癌における癌化-ステロイドシグナルaxisの機構の実態を明らかにし、その分子メカニズムに焦点を当てて研究を行い、革新的癌創薬への展開を目指した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来、Androgen除去療法に抵抗性を獲得した前立腺癌に対する新規治療法の開発は喫緊の課題である。REIC/Dkk-3をコードしたアデノウイルスベクターを去勢抵抗性の難治性前立腺癌患者の局所病巣に投与することにより、著効例が認められている。本研究では、Androgen除去療法抵抗性前立腺癌の発生抑制因子としてのREIC/Dkk-3の基盤解析がなされる。これら基礎研究・臨床研究の両サイドから得られる知見は、難治性前立腺癌に対する新規治療法開発の展開基盤となるものであり、本研究を推進することで、産学連携の推進とあらゆる癌に応用可能な治療法の基盤確立に貢献することが可能と判断される。

研究成果の概要(英文)：The mechanism of hormone therapy-resistant prostate cancer is mainly steroid receptor-mediated, and more knowledge is needed. We have focused on the downregulation of REIC/Dkk-3 expression as a critical factor in the process of carcinogenesis and have identified SGTA and TCTX-1 as proteins that bind to REIC/Dkk-3. Their interaction may regulate the maturation of the immature steroid receptor complex. Based on these findings, this study aimed to clarify the actual mechanism of the oncogenic-steroid signaling axis in treatment-resistant prostate cancer and to focus on the molecular mechanism of the oncogenic-steroid signaling axis to develop innovative cancer drug discovery.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

REIC/Dkk-3 と SGTA および Tctex-1 との相互作用が、未成熟な AR 複合体の成熟および核内への輸送を制御している可能性が極めて高い。加えて Tctex-1 が輸送分子 adaptor として機能する Dynein モーターは、Ras 活性化因子である RasGRP を Endoplasmic Reticulum (ER) 周囲にリクルートし、Oncogenic Ras である Ras-GTP を誘導することが示唆されている (J Biol Chem, 281:36132, 2006)。このことから REIC/Dkk-3、SGTA、Tctex-1 間の結合は、Dynein モーターを介した Ras 制御因子の輸送に直接的に作用し、細胞内の Oncogenic Ras レベルを制御していると考えられる。これらの知見を踏まえ本研究では、ホルモン治療抵抗性前立腺癌において REIC/Dkk-3 タンパク質がどのような細胞内物流システムに基いて癌化-ステロイドシグナル axis を制御しているのかという「問い」に対する解明研究を行い、次世代の新規シグナル阻害薬の開発にチャレンジした。

2. 研究の目的

ホルモン治療抵抗性の前立腺癌細胞が如何に発生・出現するのかを、REIC/Dkk-3 と SGTA および Tctex-1 との相互作用の観点から解析する。具体的には、まず、これら細胞内輸送 key タンパク質の発現状態および結合状態が、それぞれのステロイドシグナル (AR, GR, ER) の制御機構および Ras 活性化の制御機構にどのように影響するか、その分子メカニズムを *in vitro* 細胞実験系で解析する。REIC/Dkk-3 と SGTA or Tctex-1 との相互作用がステロイドシグナルおよび Oncogenic Ras レベルにおよぼす影響を、それぞれの機能ドメインにフォーカスして *in vitro* 実験系で解析する。Dynein motor complex を構成する HC: heavy chain、IC: intermediate chain と Tctex-1 との相互作用の観点からも同様の機能ドメイン解析を行い、Androgen Receptor 複合体および細胞質内の Ras-GTP レベルを制御する Ras 活性化制御因子について、分子モーター Dynein 複合体による細胞内輸送に関して解析を行う。次に、我々が樹立した REIC/Dkk-3 ノックアウトマウスを用いる実験系において、様々な生体内ステロイドホルモンの状態 (正常、過剰、欠如) 下に発癌誘導実験およびマウス前立腺癌細胞の移植を行い、得られた腫瘍および癌細胞についてステロイドホルモン不応性の状態を解析する。また近年の諸家の研究により、SGTA が AR、GR および ER の核内移行・シグナリングをも制御しているという報告が相次いでいる。さらに、我々はこれら 3 つのステロイド受容体が相互に影響し合い、前立腺癌のステロイドホルモン感受性を相互制御・調整している可能性を見出している。これらステロイド受容体のシグナル制御機構とそれら自体が REIC/Dkk-3 を中心としてどのように相互に影響を及ぼしあっているのかという観点からブレークスルー的知見を得たい。本研究では、これらの結果を踏まえホルモン治療抵抗性前立腺癌の根源的発生抑止機構の実態を明らかにした。

3. 研究の方法

ヒト前立腺癌 cDNA ライブラリーを用いた Yeast two-hybrid assay を実施し、REIC/Dkk-3 に結合するタンパク質として、SGTA を発見した。SGTA は細胞質内で未成熟な androgen receptor (AR) 複合体と結合し、AR の核内移行を抑制する。SGTA は自身の N 末端で 2 量体を形成し、AR 複合体の一部として AR を細胞質内で安定化させ核内移行を抑制している。また、SGTA とは別の REIC/Dkk-3 相互作用分子として、分子モーター Dynein 複合体の軽鎖サブユニットである Tctex-

1 を同定した。さらにヒトホルモン治療抵抗性前立腺癌細胞 PC3 を用いた先行研究により既に、Androgen 感受性を有するヒト正常前立腺上皮細胞(PrEC)において REIC/Dkk-3 発現を特異的 siRNA でノックダウンすると、活性化 Ras である Ras-GTP のレベルが上昇することを確認し、Androgen 感受性を有するヒト正常前立腺上皮細胞(PrEC)において REIC/Dkk-3 発現を特異的 siRNA でノックダウンすると、活性化 Ras である Ras-GTP のレベルが上昇することを確認している。我々の最新の研究報告では、ヒトホルモン療法抵抗性前立腺癌細胞 PC3 において SGTA と REIC/Dkk-3 が glucocorticoid receptor (GR) の細胞質輸送を阻害する作用があることを見出した (Sadahira T, Araki M, Nasu Y et al. *Exp Ther Med.* 2020;20:1739-1745.)。REIC/Dkk-3 は、AR だけでなく GR の細胞内輸送およびシグナル伝達に重要な役割を担っている可能性があり、治療抵抗性前立腺癌における癌化-ステロイドシグナル axis の機構の実態を明らかにすることが十分に可能であることを示唆していると考えた実験を遂行した。

4 . 研究成果

REIC/Dkk-3 はヒトホルモン治療抵抗性前立腺癌の AR の核内移行に対しては促進的に働くことが明らかとなり、一方で GR の核内移行に対しては抑制的に働くことを見出した。ただ、ER の核内移行に対しては、抑制的にも促進的にも作用しない可能性があることが示唆された。臨床的な観点からまとめると、前立腺癌が抗アンドロゲン治療剤に抵抗性を示すようになると別のステロイドレセプターであるグルココルチコイドレセプターを介してグルココルチコイドを細胞内に取り込み、癌細胞が増殖する。一方で REIC/Dkk-3 はグルココルチコイド受容体の核内輸送を抑制し、逆にアンドロゲン受容体核内輸送シグナルを再活性化させ、抗アンドロゲン治療剤の感受性を取り戻す、ということを見出した。

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
研究分担者	那須 保友 (Nasu Yasutomo) (20237572)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	荒木 元朗 (Araki Motoo) (90467746)	岡山大学・医歯薬学域・准教授 (15301)	
研究分担者	定平 卓也 (Sadahira Takuya) (20733322)	岡山大学・大学病院・助教 (15301)	
研究分担者	黄 鵬 (Peng Huang) (00610841)	岡山大学・医歯薬学域・研究准教授 (15301)	

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