

## 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25年5月31日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22591778

研究課題名（和文）酸化ストレスにより誘導されるアンドロゲンシグナルを標的とした前立腺癌治療の開発

研究課題名（英文）Development of new therapy targeting prostate cancer through DNA Damage Response under oxidative stress

研究代表者

井手 久満（IDE HISAMITSU）

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：00301383

研究成果の概要（和文）：酸化ストレスは細胞の老化や癌化に関わる重要なシグナルに密接に関与している。本研究において、酸化ストレスがDNA damage responseを介して前立腺癌細胞のアポトーシスを誘導し、その過程で男性ホルモンであるテストステロンがアポトーシスを促進的に働かせることを明らかにした。さらに我々はポリフェノール存在下におけるテストステロンの作用について検討した。前立腺癌細胞ではイソフラボン、クルクミンにより細胞増殖抑制効果がみられた。また、これらポリフェノール存在下にテストステロンによりDNA damage responseの活性化が誘導されていた。これらの結果からポリフェノール存在下にアンドロゲンシグナルはDNA damage responseを介して前立腺癌を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： Sustained chronic inflammation and oxidative stress in the prostate promote prostate carcinogenesis. The process of oncogenic transformation leads to enhanced DNA damage and activates the checkpoint network that functions as an inducible barrier against cancer progression. Here, we analyzed the effects of testosterone on the DNA damage response in prostate cancer cells to assess whether testosterone functions a barrier to cancer progression under the oxidative stress.  $H_2O_2$  induced apoptosis and phosphorylation of ATM, Chk2, and H2AX in prostate cancer cells. Androgen treatments increased  $H_2O_2$ -induced activation of the DNA damage response and PARP cleavage, but not when the  $H_2O_2$ -treated cells were also treated with the anti-androgen flutamide. In this study, we also examined the biological effects of soy isoflavones and curcumin through the DNA damage response in prostate cancer cells. In conclusions, DNA damage response plays important roles in the maintenance of the cell homeostasis in response to oxidative stress during aging. Our results indicate that androgen signaling have tumor suppressive effects in prostate carcinogenesis through DNA damage response pathways under oxidative stress. In addition, our results may indicate that isoflavones and curcumin can modulate serum PSA levels and presumably suppress prostate carcinogenesis through the suppression of androgen receptor expression and the activation of DNA damage signaling pathways.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
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, 酸化ストレス, アンドロゲン

#### 1. 研究開始当初の背景

前立腺においては、テストステロンの減少が前立腺に炎症を惹起すること、また低アンドロゲンでは高グリソングレードの前立腺癌頻度が高くなることから、加齢によるアンドロゲンの減少が、酸化ストレスの増加を通じ前立腺発癌に関与する可能性がある。しかし、前立腺の発癌や癌進展における酸化ストレス・ROS シグナル伝達系、とくにアンドロゲンシグナルとの関連はほとんど分かっていない。テストステロンにより、アンドロゲン受容体は安定化し、その蛋白発現は上昇する。しかし、我々は様々な酸化ストレス下では、アンドロゲン受容体の発現が低下し、この環境下では、テストステロンによりアポトーシスがさらに誘導されることを発見した。

#### 2. 研究の目的

酸化ストレスは細胞の老化や癌化に関わる重要なシグナルに密接に関与している。我々は酸化ストレスが DNA damage response を介して癌細胞のアポトーシスを誘導し、その過程で男性ホルモンであるテストステロンがアポトーシスを促進的に働かせることを明らかにしてきた。本研究では酸化ストレス下におけるアンドロゲンシグナル機構の解明と酸化ストレスにより誘導されるアンドロゲンシグナルを標的とした前立腺癌に対する新しい治療戦略の立脚を目指す。

#### 3. 研究の方法

アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株 LNCaP、22Rv1 を用いて、これらポリフェノール存在下や酸化ストレス存在下における DNA damage response の誘導をリン酸化特異的抗体を用いた Western blotting にて検討した。また、クルクミン存在下におけるテストステロンの作用についても検討した。さらにクルクミンの増殖および浸潤に対する効果をそれぞれ MTS アッセイおよび Matrigel invasion アッセイにて検討した。酸化ストレスモデルとして H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を培地に添加し、酸化ストレスによる DNA-damage response 伝達系の活性化について検討した。アポトーシスは flow cytometry、caspase-3 cleavage および DNA laddering, PARP cleavage にて評価した。

#### 4. 研究成果

本研究において、酸化ストレスが DNA damage response を介して前立腺癌細胞のアポトーシスを誘導し、その過程で男性ホルモンであるテストステロンがアポトーシスを促進的に働かせることを明らかにした。これらの結果から、酸化ストレスの存在下にテストステ

ロンの発癌抑制効果が示唆された。さらに前立腺癌の酸化ストレスによる発癌予防とテストステロンの関連について検討した。酸化ストレスはミトコンドリアや DNA を障害し様々な疾患を引き起こす。一方、抗酸化物質の摂取により癌を予防できる可能性が示唆されている。クルクミンとイソフラボンはアジアにおいてよく摂取され、強力な抗酸化作用および抗炎症作用を有している。我々はこれらポリフェノール存在下におけるテストステロンの作用について検討した。前立腺癌細胞ではイソフラボン、クルクミンにより細胞増殖抑制効果がみられた。また、これらポリフェノール存在下にテストステロンにより DNA damage response の活性化が誘導されていた。これらの結果からポリフェノール存在下にアンドロゲンシグナルは DNA damage response を介して前立腺発癌を抑制する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 4 件)

- ① Ide, H., Yu, J., Lu, Y., China, T., Kumamoto, T., Koseki, T., Muto, S., Horie, S: Testosterone promotes DNA damage response under oxidative stress in prostate cancer cell lines. Prostate., 72:1407-11. 2012
- ② Inoue, S., Ide, H., Kurihara, K., Koseki, T., Yu, J., China, T., Saito, K., Isotani, S., Muto, S., Horie, S. : Clinical possibility of CRH test in Subclinical Cushing's syndrome to predict the cortisol replacement after adrenalectomy. Korean J Urol. 53: 414-8, 2012
- ③ Isotani, S., Muto, S., Yu, J., Nagae, M., China, T., Koseki, T., Kumamoto, T., Tokiwa, S., Yoshii, T., Saito, K., Yamaguchi, R., Ide, H., Horie, S.

Clinical and safety profiles of bipolar transurethral vaporization of the prostate in saline: a preliminary report. Asian J Endosc Surg. 5: 21-4, 2012.

- ④ Ide, H., Yu, J., Lu, Y., China, T., Kumamoto, T., Koseki, T., Muto, S., Horie, S: Testosterone augments polyphenol-induced DNA damage response in prostate cancer cell line, LNCaP. Cancer Sci., 102:468-71. 2011

[学会発表] (計 13 件)

- ① Ide, H.: Men's Anti-Aging in Japan. 10<sup>th</sup> Anti-Aging Medicine World Congress, Monaco, 2012
- ② 井手久満, 坂巻頭太郎, 寺戸雄一, 知名俊幸, 小関達郎, 常盤紫野, 吉井隆, 斎藤恵介, 磯谷周治, 久末伸一, 山口雷蔵, 井手久満, 堀江重郎: 根治的前立腺全摘除施行例における血清 LH, FSH 値の検討. 第 100 回日本泌尿器科学会総会, 2012, 東京.
- ③ 井手久満: シンポジウム 会陰式前立腺全摘除術. 第 46 回泌尿器手術手技研究会, 2011, 東京.
- ④ 井手久満, 于浄松, 陸彦, 武藤智, 堀江重郎: クルクミンに関する知見を中心にクルクミンによる前立腺癌予防の可能性. 日本薬学会第 131 年会. 2011.
- ⑤ 井手久満: 前立腺がん予防のための機能性食品. 日本アンドロロジー学会第 30 回学術大会. 2011. 東京.
- ⑥ Ide, H.: Prostate Cancer and curcumin: current application and future prospect. International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods 2011, 札幌.
- ⑦ 井手久満, 陸彦, 于浄松, 武藤智, 堀江重郎: テストステロンはポリフェノール存在下に DNA damage response を誘導する. 第 11 回日本抗加齢医学会総会, 2011 年, 京都.
- ⑧ 井手久満, 陸彦, 于浄松, 武藤智, 堀江重郎: テストステロンはポリフェノール存在下に DNA damage response を誘導する. 第 20 回日本腎泌尿器疾患予防医学研究会, 2011, 群馬.
- ⑨ 井手久満, 于浄松, 陸彦, 知名俊幸, 磯谷周治, 久末伸一, 山口雷蔵, 武藤智, 堀江重郎: テストステロンは前立腺癌細胞においてクルクミンによる DNA damage response を増加させる (Testosterone augments curcumin-induced DNA damage response in prostate cancer cell). 第 70 回日本癌学会学術集会, 2011, 名古屋.
- ⑩ 井手久満, 寺戸雄一, 坂巻頭太郎, 知名俊幸, 小関達郎, 常盤紫野, 吉井隆, 斎藤恵介, 磯谷周治, 久末伸一, 山口雷蔵, 武藤智, 堀江重郎: 根治的前立腺全摘除術施行例における血清 LH, FSH 値の臨床的検討. 第 49 回日本癌治療学会学術集会, 2011, 名古屋.
- ⑪ 井手久満, 陸彦, 于浄松, 武藤智, 堀江重郎: テストステロンはポリフェノール存在下に DNA damage response を誘導する. 第 11 回日本抗加齢医学会総会, 2011, 京都.
- ⑫ 井手久満, 吉井隆, 坂巻頭太郎, 寺戸雄一, 知名俊幸, 小関達郎, 熊本友香, 常盤紫野, 斎藤恵介, 磯谷周治, 山口雷蔵, 武藤智, 堀江重郎: 根治的前立腺全摘除術施行例における血清 LH, FSH 値の臨床的検討. 第 99 回日本泌尿器科学会総会, 2011, 名古屋.
- ⑬ 堀江重郎, 陸彦, 于浄松, 知名俊幸, 小関達郎, 熊本友香, 斎藤恵介, 磯谷周治, 山口雷蔵, 井手久満, 武藤智: クルクミンによる前立腺癌細胞増殖ならびに浸潤抑制機構の解明. 第 99 回日本泌尿器科学会総会, 2011, 名古屋.

[図書] (計 4 件)

- ① 井手久満: アンドロゲン環境と前立腺癌. 前立腺癌, 大阪, 日本臨床, 2011, 69, 61-65.
- ② 井手久満: 前立腺癌幹細胞の新知見. 前立腺癌. 大阪, 日本臨床, 2011, 633-637.
- ③ 井手久満, 堀江重郎: 泌尿器科薬物療法. メジカルビュー社. 2011, 124-131.
- ④ 井手久満, 久末伸一, 堀江重郎: がん治療  
レクチャー, 総合医学社, 2011, 907-911

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井手 久満 (IDE HISAMITSU)

帝京大学・医学部・准教授

研究者番号：00301383