

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 29 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462484

研究課題名(和文) 前立腺癌化学予防薬がアンドロゲンシグナルに及ぼす分子薬理学的機序の解析

研究課題名(英文) The molecular mechanism of prostate cancer chemo-prevention agents with androgen receptor.

研究代表者

横溝 晃 (Akira, Yokomizo)

九州大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60346781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌の発症予防のため、その有効性が報告されている物質が、どのような分子機序で働いているのか解明することが本研究の目的である。大豆に含まれるイソフラボンや、COX阻害剤であるアスピリンやセレコキシブなどの物質に注目した。その結果、アスピリンはプロスタグランジンEP3受容体を介して、セレコキシブはEP2受容体を介して、それぞれアンドロゲン受容体(AR)の発現調節を行っていた。また、イソフラボンの一種のエコールは、Skp2を介してAR蛋白分解を促進することで、ARシグナルを阻害する作用を有していることを明らかにした。これらの結果は、将来的に前立腺癌の化学予防の発展に貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：To reveal the molecular mechanisms of chemoprevention of prostate cancer, we focused on aspirin, celecoxib and equol (isoflavone). We identified that prostaglandin receptor EP3 mediates growth inhibitory effect of aspirin through androgen receptor and contributes to castration resistance in prostate cancer cells. Furthermore, EP2 signaling mediates suppressive effects of celecoxib on androgen receptor expression and cell proliferation in prostate cancer. Finally, equol augments Skp2-mediated androgen receptor degradation. These findings will contribute to chemoprevention for prostate cancer.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 化学予防 分子生物学

1. 研究開始当初の背景

前立腺がんは本邦では増加の一途を辿っており、その治療も重要ではあるが、発症予防は最も重要な課題と言える。前立腺癌の発症と進展には、アンドロゲン受容体 (AR) シグナルが最も重要であり食事や内服薬に関する疫学的な研究より、AR と関連する化学予防が有効であることが判明しているが、その分子機序については不明なことも多い。我々は、これまでに、前立腺がんに対するアンドロゲン除去療法 (ADT) や去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) への進展の際に活性酸素や酸化ストレスが大きな役割を果たし、この酸化ストレスによって転写因子である Twist-1、YB-1 が発現誘導され、AR の発現誘導につながる分子機序を解明した。この研究では疫学的にその有効性が報告されているイソフラボン、スタチン、アスピリンなどの物質が、AR シグナルやその関連分子とどのような分子作用を有し、前立腺がんの予防に関与しているか分子生物学的にその機序を解明することを目的としている。前立腺癌の予防薬の分子薬理学的作用機序が明らかになれば、予防薬普及の原動力となり、大規模な介入試験を行う動機付けを行うことができる。その結果、将来前立腺癌の化学予防の発展に貢献することが期待される。

2. 研究の目的

この研究では疫学的にその有効性が報告されているイソフラボン、スタチン、アスピリンなどの物質が、AR シグナルやその関連分子とどのような分子作用を有し、前立腺がんの予防に関与しているか分子生物学的にその機序を解明することを目的としている。

3. 研究の方法

これまでの研究において、我々は AR-プロモーターレポーターアッセイ (Luciferase) 各々の deletion construct、AR-GFP による AR の核内移行の観察、real-time PCR 法、

AR プロモーター領域の ChiP assay, ゲルシフトアッセイ、siRNA 法、ヌードマウス移植研究、免疫組織学的検討などに精通し、また、前立腺がん細胞株である LNCaP とその CRPC 株として我々が樹立した CxR 細胞、および、CRPC 前立腺がん細胞株 PC-3、DU-145、22Rv1 細胞や前立腺非がん細胞 (RWPE-1) を有している。これらの細胞株培養液に前立腺癌予防物質を加えて、細胞増殖抑制効果やその原因をこれらの分子生物学的手法を用いて解析する。

4. 研究成果

これまでにアスピリンを含む NSAIDs が前立腺がんのみならず、大腸がんや肺がんを予防する効果のあることが報告されている (Harris R, Inflammopharmacology 2009)。また、NSAIDs 内服者は前立腺全摘後の PSA 再発率を低下させることも報告されている (Smith MR, et al, J Clin Oncol 2006)。我々は、LNCaP 細胞と 22Rv1 細胞において、アスピリンが AR の発現低下を生じることを見出し、その機序として prostaglandin とその受容体への影響を検討したところ、アスピリンでは、Prostaglandin 受容体 EP3 と EP2 を介した AR の発現低下がその機序であることを新たに見出した (Endocr Relat Cancer. 2013, Prostate Cancer Prostatic Dis. 2014)。

また、ゲニステインやダイゼインは、代表的なイソフラボンであり、ダイゼインは摂取された後に腸内細菌叢によってエクオールに代謝される。我々は、これら 3 つの代表的なイソフラボン類の中で、前立腺癌細胞 LNCaP における AR の発現低下にエクオールが最も強い AR 抑制活性をもつことを今回明らかにした。その機序として、AR の転写抑制ではなく、エクオールが Skp2 を介して、AR 蛋白分解を促進しているという知見を得た。Skp2 の発現は、エクオールの効果

発現に必須であり、アンドロゲン感受性のある前がん病変や前立腺癌において AR の分解に参与しているが、CRPC では効果が減衰することを明らかにした (Cancer Sci, in press, 2016)。

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9件)

1. Kashiwagi E, Shiota M, Yokomizo A, Itsumi M, Inokuchi J, Uchiumi T, Naito S. Prostaglandin receptor EP3 mediates growth inhibitory effect of aspirin through androgen receptor and contributes to castration resistance in prostate cancer cells. *Endocr Relat Cancer*. 2013, 20(3):431-41.
2. Kashiwagi E, Shiota M, Yokomizo A, Inokuchi J, Uchiumi T, Naito S. EP2 signaling mediates suppressive effects of celecoxib on androgen receptor expression and cell proliferation in prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*. 2014, 17(1):10-7.
3. Shiota M, Itsumi M, Yokomizo A, Takeuchi A, Imada K, Kashiwagi E, Inokuchi J, Tatsugami K, Uchiumi T, Naito S. Targeting ribosomal S6 kinases/Y-box binding protein-1 signaling improves cellular sensitivity to taxane in prostate cancer. *Prostate*. 2014, 74(8):829-38.
4. Shiota M, Yokomizo A, Takeuchi A, Imada K, Kashiwagi E, Song Y, Inokuchi J, Tatsugami K, Uchiumi T, Naito S. Inhibition of protein kinase C/Twist1 signaling augments anticancer effects of androgen deprivation and enzalutamide in prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2014, 20(4):951-61.
5. Shiota M, Yokomizo A, Takeuchi A, Itsumi M, Imada K, Kashiwagi E, Inokuchi J, Tatsugami K, Uchiumi T, Naito S. Inhibition of RSK/YB-1 signaling enhances the anti-cancer effect of enzalutamide in prostate cancer. *Prostate*. 2014, 74(9):959-69.
6. Shiota M, Fujimoto N, Yokomizo A, Takeuchi A, Itsumi M, Inokuchi J, Tatsugami K, Uchiumi T, Naito S. SRD5A gene polymorphism in Japanese men predicts prognosis of metastatic prostate cancer with androgen-deprivation therapy. *Eur J Cancer*. 2015, 51(14):1962-9
7. Shiota M, Fujimoto N, Imada K, Yokomizo A, Itsumi M, Takeuchi A, Kuruma H, Inokuchi J, Tatsugami K, Uchiumi T, Oda Y, Naito S. Potential Role for YB-1 in Castration-Resistant Prostate Cancer and Resistance to Enzalutamide Through the Androgen Receptor V7. *J Natl Cancer Inst*. In press, 2016.
8. Shiota M, Fujimoto N, Yokomizo A, Takeuchi A, Kashiwagi E, Dejima T, Kiyoshima K, Inokuchi J, Tatsugami K,

Eto M. The prognostic impact of serum testosterone during androgen-deprivation therapy in patients with metastatic prostate cancer and the SRD5A2 polymorphism. Prostate Cancer Prostatic Dis. In press, 2016

9. Itsumi M, Shiota M, Takeuchi A, Kashiwagi E, Inokuchi J, Tatsugami K, Kajioka S, Uchiumi T, Naito S, Eto M, Yokomizo A. Equol inhibits prostate cancer growth via degradation of the androgen receptor by Skp2. Cancer Sci. in press 2016

〔学会発表〕(計3件)

1. Momoe Itsumi, Masaki Shiota, Akira Yokomizo, Eiji Kashiwagi, Ario Takeuchi, Keiji Imada, Katsunori Tatsugami, Junichi Inokuchi, Takeshi Uchiumi, Seiji Naito. Isoflavons, daidzein and equol, are involved in the biology of prostate cancer The 4th Asian Pacific Prostate Society in Okinawa, 2014年03月21日~2014年03月22日 沖縄県 プセナテラス
2. 逸見百江、塩田真己、横溝 晃、柏木英志、武内在雄、今田憲二郎、立神勝則、猪口淳一、内海 健、梶岡俊一、内藤誠二 イソフラボン は前立腺がんのアンドロゲン受容体発現を調節することで抗腫瘍効果をもたらす第73回日本癌学会学術集会 2014年09月26日~2014年09月26日 パシフィコ横浜
3. Moe Itsumi, Masaki Shiota, Akira Yokomizo, Eiji Kashiwagi, Ario Takeuchi, Kenji Imada, Katsunori Tatsugami, Junichi Inokuchi, Takeshi Uchiumi, Shunichi Kajioka, Seiji Naito Equol promotes protein degradation of androgen receptor via Skp2 and suppressed cell proliferation in prostate cancer 第74回日本癌学会学術総会(国際学会) 2015年10月08日~2015年10月10日,名古屋国際会議場

〔図書〕(計1件)

Shiota M., Yokomizo A., Naito S. Cancer, Chapter 2 Oxidative Stress and Prostate Cancer “oxidative stress and dietary

antioxidants “ Elsevier Inc.2014
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124052055000027>

〔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
横溝 晃 (YOKOMIZO, Akira)
九州大学大学院医学研究院泌尿器科学分野・准教授
研究者番号: 60346781