

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 20 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25861418

研究課題名(和文) 間質をターゲットとする去勢抵抗性前立腺癌新規治療戦略の探索

研究課題名(英文) Investigation of new therapeutic strategies for targeting tumor stroma of castration-resistant prostate cancer

研究代表者

吉尾 裕子 (Yoshio, Yuko)

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10646251

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌間質における線維芽細胞の増生は去勢マウス前立腺に生じる間質リモデリングに類似しており、去勢療法中の前立腺癌が去勢抵抗性を獲得するメカニズムの一つと考えている。我々の検討によりマウスを去勢すると前立腺は臓器としては萎縮する方向へ向かっているように見えるものの、実際に萎縮するのは腺上皮細胞と平滑筋細胞であり、間質リモデリングの誘導に伴い線維芽細胞が増加し、複数の細胞増殖因子の発現上昇が起こり、結果的に基底上皮細胞数が有意に増加することを見出した。このようなアンドロゲン環境に依存した前立腺の構造変化を解明することは間質をターゲットとする去勢抵抗性前立腺癌の新規治療戦略を考える上で重要となる。

研究成果の概要(英文)：Stromal remodeling following androgen ablation is accompanied by a functional transformation of the prostate stromal environment. In the mouse prostate, androgen ablation leads to the death of secretory epithelial cells and smooth muscle cells, while basal epithelial cells and fibroblasts, the AR-negative population, survive. After androgen ablation, mRNA expression levels of specific growth factors such as Fgf2 were relatively abundant in whole mouse DLPS. The proliferation of basal epithelial cells in the absence of DHT was suppressed by treatment with an FGF receptor inhibitor. In addition, FGF2 treatment directly stimulated the proliferation of basal epithelial cells. Finally, these data indicated that the FGF2-FGF receptor signal cascade in the prostate gland may be one of the pathways stimulating the proliferation of basal epithelial cells in the absence of androgens. Our results suggest that the prostate stromal structure may exhibit marked changes after androgen ablation.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺 アンドロゲン感受性 去勢抵抗性前立腺癌 間質リモデリング 線維芽細胞 平滑筋細胞 基底上皮細胞

1. 研究開始当初の背景

近年、前立腺癌の増加が医療社会的に注目されている。実際、将来の我が国における前立腺癌罹患数の増加に関しては、2020年には78,468人と肺癌に次いで男性癌の2番目になると予測されている。

臨床においては、進行前立腺癌に対する治療の1つとしてアンドロゲン除去療法（去勢）が一般的に行われている。去勢療法開始後、一定期間は癌細胞の増殖が抑制され、前立腺特異抗原（prostate-specific antigen: PSA）値の低下、症状の寛解を認めるが、長期間去勢療法を続けているといずれ去勢に抵抗性を示す去勢抵抗性前立腺癌となる。この去勢抵抗性前立腺癌に対しては未だ有効な治療法が確立されておらず、予後が極めて悪いことが深刻な問題である。

一般的に前立腺はアンドロゲンに依存して成長し、主に成熟した平滑筋細胞層に取り囲まれ、腺上皮細胞は形態形成因子(morphogen)の支配下に分化・機能(PSA産生)が維持されている。しかし、癌周囲の間質では平滑筋細胞が退縮し、筋線維芽細胞や線維芽細胞が優位な状態になっており、両細胞は増殖刺激に働く細胞増殖因子(EGF, FGFs, HGF, IGFs, NGF, TGF α , TGF β 等)やサイトカインを産生・分泌する。我々はこれら細胞増殖因子やサイトカインによる増殖刺激が、前立腺癌の去勢抵抗性獲得に関与していると考えている。これら細胞増殖因子やサイトカインの産生を抑制することが、前立腺癌の去勢抵抗性獲得を阻止し、前立腺癌に対する新規治療法(分子標的剤)の開発につながると期待された。

2. 研究の目的

去勢抵抗性前立腺癌は既にホルモン療法の効果が減弱しているため、癌細胞自身を死滅させる抗腫瘍薬が臨床において行われているが、奏功期間が短いことや強度の副作用が原因で治療を継続できない症例が少なくないのも事実である。本研究課題では、これまで当教室にて確立してきた実験手法を応用して、間質リモデリングにより発現上昇し、去勢抵抗性前立腺癌への進展を促進する増殖因子の同定を遂行する。これまで進行前立腺癌の1st lineとされてきたホルモン療法に対して抵抗性となった後でも、全く異なる機序により治療効果が十分期待できる治療法(同定された増殖因子を選択的に阻害する新たな分子標的薬の開発)の基礎的基盤を確立することを目的とした。

3. 研究の方法

細胞株

アンドロゲン低感受性E9細胞は、アンドロゲン感受性LNCaPを限外希釈することにより単離し、アンドロゲン不応性AIDL細胞は、LNCaPを血清中ホルモン除去下で培養することにより樹立した。生化学的特性として合成アンドロゲンR1881に対する反応性を比較し、E9はアンドロゲン低感受性、AIDLはアンドロゲン不応性であることを確認した。

マウス前立腺への同所移植法

雄ヌードマウス(8~10週齢)を吸入麻酔下にて去勢し、去勢後3日目にアバチン麻酔下に開腹し、後側葉dorsolateral prostate(DLP)にそれぞれ15万個/15 μ Lマトリジェルの前立腺癌細胞を移植し、4週間後に腫瘍組織を回収した。

ゼノグラフトモデルの作製

前立腺肥大症の摘出手術材料を雄ヌードマウス(8~10週齢)の腎被膜下へ移植した。

去勢マウス前立腺の解析

8週齢の雄C57BL/6マウスを去勢し、経時的にDLPを回収し、病理組織学的な評価および遺伝子発現解析を施行した。

無血清器官培養法

8週齢の雄C57BL/6マウスDLPを実体顕微鏡下にて微小解剖し、ミリセルフィルターを用いて施行した。

4. 研究成果

平成25年度

去勢後免疫不全マウスを用いた前立腺癌細胞株同所移植モデルによる腫瘍増殖修飾作用の解析について、アンドロゲン受容体を発現しているアンドロゲン感受性を有するヒト前立腺癌細胞株LNCaPを親株として、アンドロゲン低感受性の亜株E9とアンドロゲン不応性となった亜株AIDLを独自に作製し、ヌードマウスの前立腺に同所移植した。

まず、sham operation群に移植したLNCaP, E9, AIDL腫瘍重量および体積はE9>>AIDL>LNCaPの順で高かった。次に、去勢群に移植したLNCaP, E9, AIDL腫瘍重量および体積はE9=AIDL>>>LNCaPの順で高かった。つまり、アンドロゲン感受性を有するLNCaPは低アンドロゲン環境下では腫瘍形成が顕著に低下するものの、アンドロゲン感受性もしくは不応性を獲得した亜株E9とAIDLの腫瘍形成は低アンドロゲン環境下でも生き延びることが確認できた。また、病理組織学的な解析により、去勢群に癌細胞を移植すると癌細胞周囲の線維芽細胞に細胞外

マトリックス糖タンパク質の1つであるテネイシンCが強発現していることを見出した。sham operation群に移植した癌細胞周囲ではテネイシンCの発現が認められなかったことから、体内アンドロゲン濃度の低下によりマウス前立腺に間質リモデリングが生じ、移植した癌細胞と接した線維芽細胞が癌関連線維芽細胞様に変化した可能性が示唆された。

平成26年度

本年度は前立腺肥大症の摘出手術材料を免疫不全ヌードマウスの腎被膜下へ移植し、ホストマウスの体内アンドロゲン環境の違いで生じるヒト前立腺組織構築の変化を観察した。

一般的に、マウス体内のアンドロゲン濃度はヒトと比較して1/3程度と言われており、前立腺肥大症の摘出手術材料をマウスへ移植するだけでは前立腺組織が萎縮してしまう。そこで我々は、10 mgテストステロン錠を自作し、摘出手術材料の移植時にホストマウス皮下に投与することでヒト体内の前立腺組織と同様の病理組織像を得るに至った。本研究課題では10 mgテストステロン錠を皮下に投与し、ホストマウス体内アンドロゲン濃度を高く維持する「+T群」、テストステロン錠を投与しない「Intact群」、そしてホストマウスを去勢し、限りなく体内アンドロゲン濃度を低くした「Castrated群」の3群に分けて、それぞれの体内アンドロゲン環境におけるヒト前立腺組織の病理組織像を比較検討した。その結果、Intact群およびCastrated群では腺上皮細胞が萎縮～減少し、主にp63陽性の基底上皮細胞が残存していた。正常な腺上皮細胞が発現しているアンドロゲン受容体はCastrated群で完全に消失し、同時に前立腺特異抗原PSAの発現も消失していた。間質について、+T群では肥厚で、成熟した α SMA陽性の平滑筋細胞層が認められるものの、Intact群およびCastrated群では平滑筋細胞層が消失した。なお、いずれの群においてもvimentin陽性の線維芽細胞は存在していた。以上より、ヒト前立腺組織の構造は体内アンドロゲン環境の違いで大きく変化し、低アンドロゲン環境下における間質リモデリングの誘導が前立腺の増殖性病変と密接に関係している可能性が示唆された。

平成27年度

本年度は体内アンドロゲン環境の低下により生じる前立腺間質リモデリングを1つの実験モデルとして、間質リモデリングと前立腺疾患との接点を探索した。

その結果、去勢マウスDLPでは腺管周囲の平滑筋細胞層が退縮し、線維芽細胞の増生が観察された。去勢により腺上皮細胞数は経時的に減少したが、基底上皮細胞数は増加した。去勢マウスDLPからRNAを抽出し、リアルタ

イムPCRを施行したところ、去勢直後から*Egf*, *Fgf10*, *Igf1* mRNA発現が減少した。興味深いことに、去勢マウスDLPでは*Fgf2*, *Fgf7*, *Hgf*, *Tgfa*, *Tgfb* mRNAが経時的に発現増加した。去勢マウスDLPで観察された基底上皮細胞数の増加は成獣マウスDLPをアンドロゲン除去下で培養した無血清器官培養実験においても観察された。そこで、FGF受容体阻害剤PD173074、EGF受容体阻害剤AG1478、cMet阻害剤cMet inhibitor、TGF β 受容体阻害剤LY364947を併用してみたところ、アンドロゲン除去下における基底上皮細胞数の増加はFGF受容体阻害剤PD173074により抑制された。さらに、成獣マウスDLPをFGF-2, FGF-7で刺激したところ、基底上皮細胞数が有意に増加することを確認した。

マウスを去勢すると前立腺は臓器としては萎縮する方向へ向かっているように見える。しかし、実際に萎縮するのは腺上皮細胞と平滑筋細胞であり、間質リモデリングの誘導に伴い線維芽細胞が増加し、複数の細胞増殖因子の発現上昇が起こり、結果的に基底上皮細胞数が有意に増加することを見出した。基底上皮細胞は幹細胞が存在する分画と言われているため、私は体内アンドロゲン環境が回復した際に前立腺が再増殖できるように基底上皮細胞が備えているのではないかと考えた。実際に、去勢マウスにアンドロゲンを投与すると腺上皮細胞数が回復すると共に、基底上皮細胞数は有意に低下し、去勢前の状態（腺上皮細胞/基底上皮細胞の割合）に戻った。このようなアンドロゲン環境に依存した前立腺の萎縮や再増殖機構に間質リモデリング、基底上皮細胞、細胞増殖因子FGFsが関与していることを見出したことは、間質をターゲットとする去勢抵抗性前立腺癌の新規治療戦略を考える上で非常に有用な知見となった。

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 8 件)

- 1) 腎盂尿管腫瘍の診断における腎盂尿管鏡の有用性に関する検討
神田 英輝、西井 正彦、舛井 覚、西川 晃平、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
Japanese Journal of Endourology 27: 200-206, 2014. (査読有り)
<http://doi.org/10.11302/jsejje.27.200>
- 2) ビルハルツ住血吸虫症の1例
長谷川 嘉弘、西井 正彦、舛井 覚、吉尾 裕子、神田 英輝、金井 優博、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
泌尿器科紀要 60: 91-94, 2014. (査読有り)

- <http://hdl.handle.net/2433/185870>
- 3) 当院における膀胱癌MRI診断成績－拡散強調画像の有用性の検討－
山田 泰司、小林 茂樹、西井 正彦、舛井 覚、西川 晃平、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、金井 優博、神田 英輝、有馬 公伸、佐久間 肇、杉村 芳樹
日本腎泌尿器疾患予防医学研究会誌 22: 61-63, 2014. (査読無し)
 - 4) 後腹膜軟部肉腫 10 例の臨床的検討
堀 靖英、西井 正彦、舛井 覚、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、神田 英輝、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
泌尿器外科 26: 1593-1596, 2013. (査読有り)
 - 5) 前立腺肥大症に対する 120W・HPS を用いた光選択式前立腺蒸散術 PVP の初期経験
堀 靖英、黒松 功、西井 正彦、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、神田 英輝、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
日本泌尿器科学会雑誌 104: 657-662, 2013. (査読有り)
<http://doi.org/10.5980/jpnjurol.104.657>
 - 6) MRI にて特徴的所見を呈した前立腺原発悪性リンパ腫の 1 例
堀 靖英、西井 正彦、舛井 覚、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、神田 英輝、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
泌尿器科紀要 59: 377-380, 2013. (査読有り)
<http://id.ndl.go.jp/bib/024624396>
 - 7) 男性更年期外来受診者 62 例の臨床的検討
堀 靖英、西井 正彦、舛井 覚、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、神田 英輝、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
泌尿器科紀要 59: 491-495, 2013. (査読有り)
<http://id.ndl.go.jp/bib/024786037>
 - 8) 膀胱アミロイドーシスに対し Dimethyl sulfoxide(DMSO)貼付療法が有効であった 1 例
長谷川 嘉弘、神田 英輝、三木 学、舛井 覚、吉尾 裕子、山田 泰司、曾我 倫久人、有馬 公伸、杉村 芳樹
泌尿器科紀要 59: 673-676, 2013. (査読有り)
<http://id.ndl.go.jp/bib/024951490>

[学会発表] (計 9 件)

- 1) 第 53 回 日本癌治療学会学術集会 (平成 27 年 10 月 29 日－10 月 31 日) 国立京都国際会館 (京都府・京都市)
当院におけるドセタキセル投与後の去勢前立腺癌に対するエンザルタミドの治療効果
神田 英輝、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 2) 第 65 回 日本泌尿器科学会中部総会 (平

- 成 27 年 10 月 23 日－25 日) 長良川国際会議場 (岐阜県・岐阜市)
去勢抵抗性前立腺癌に対する Enzalutamide の使用経験
吉尾 裕子、梶原 進也、加藤 桃子、吉川 昌希、加藤 学、矢崎 順二、西川 晃平、長谷川 嘉弘、神田 英輝、金井 優博、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 3) 第 65 回 日本泌尿器科学会中部総会 (平成 27 年 10 月 23 日－25 日) 長良川国際会議場 (岐阜県・岐阜市)
去勢抵抗性前立腺癌に対する Docetaxel 治療効果予測因子に関する検討
神田 英輝、梶原 進也、加藤 桃子、吉川 昌希、加藤 学、矢崎 順二、西川 晃平、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、金井 優博、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 4) 第 103 回 日本泌尿器科学会総会 (平成 27 年 4 月 18 日－21 日) ANA クラウンプラザホテル金沢 (石川県・金沢市)
経会陰的前立腺 saturation biopsy における生検方法の検討
吉尾 裕子、杉野 友亮、吉川 昌希、西井 正彦、矢崎 順二、西川 晃平、長谷川 嘉弘、神田 英輝、金井 優博、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 5) 第 103 回 日本泌尿器科学会総会 (平成 27 年 4 月 18 日－21 日) ANA クラウンプラザホテル金沢 (石川県・金沢市)
前立腺癌に対するヨウ素 125 密封小線源永久挿入療法後の排尿状態の検討
長谷川 嘉弘、杉野 友亮、吉川 昌希、西井 正彦、西川 晃平、矢崎 順二、吉尾 裕子、金井 優博、神田 英輝、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 6) 第 64 回 日本泌尿器科学会中部総会 (平成 26 年 10 月 17 日－19 日) アクトシティ浜松 コンgressセンター (静岡県・浜松市)
経直腸的前立腺生検前スワブ便培養による生検後感染予防効果についての検討
吉尾 裕子、杉野 友亮、吉川 昌希、西井 正彦、矢崎 順二、西川 晃平、長谷川 嘉弘、神田 英輝、金井 優博、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 7) 第 102 回 日本泌尿器科学会総会 (平成 26 年 4 月 24 日－27 日) 神戸国際会議場 (兵庫県・神戸市)
テンプレートを用いた経会陰的前立腺 saturation biopsy の検討
吉尾 裕子、西井 正彦、舛井 覚、西川 晃平、長谷川 嘉弘、神田 英輝、金井 優博、山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹
- 8) 第 29 回 前立腺シンポジウム (平成 25 年 12 月 14 日－15 日) 東京コンファレンスセンター・品川 (東京都・港区)
High risk 前立腺癌に対する術前ホルモン療法併用ドセタキセル化学療法の有効性に関する検討
西川 晃平、舛井 覚、西井 正彦、吉尾 裕

- 子、長谷川 嘉弘、神田 英輝、金井 優博、
山田 泰司、有馬 公伸、石井 健一朗、内
田 克典、白石 泰三、杉村 芳樹
- 9) 第 101 回 日本泌尿器科学会総会（平成
25 年 4 月 25 日－28 日）ロイトン札幌（北
海道・札幌市）
前立腺癌の局在診断における MRI 拡散強
調画像の有用性の検討
神田 英輝、西井 正彦、舛井 覚、西川 晃
平、堀 靖英、吉尾 裕子、長谷川 嘉弘、
山田 泰司、有馬 公伸、杉村 芳樹

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉尾 裕子（Yoshio, Yuko）
三重大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：10646251

(2) 研究分担者

(3) 連携研究者