

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：13101
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2015～2016
課題番号：15K20075
研究課題名（和文）前立腺組織内アンドロゲン環境の変化に適応したアンドロゲン受容体活性化機構の解明

研究課題名（英文）Clarifying the mechanism for activating androgen receptor signaling pathway in prostate cancer adapted for altered intraprostatic androgen milieu

研究代表者
瀧澤 逸大（TAKIZAWA, ITSUHIRO）

新潟大学・医歯学総合病院・医員

研究者番号：60444171
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）：低アンドロゲン環境下に適応した前立腺癌アンドロゲン受容体活性化機構の解明を目的とした。5 α -還元酵素阻害剤、デュタステリドの投与群、非投与群の前立腺癌組織内ステロイド濃度を測定し、21炭素ステロイドである20 β -OHDHPに着目した。20 β -OHDHPは野生型および変異型前立腺癌細胞株のアンドロゲン受容体を活性化し、細胞増殖を促進することが明らかとなった。20 β -OHDHPの合成経路は去勢抵抗性前立腺癌の治療標的となりうることを示唆された。

研究成果の概要（英文）：The purpose of the study was to clarify the mechanism for activating androgen receptor signaling pathway in prostate cancer adapted for intraprostatic androgen milieu reduced by 5 α -reductase inhibitor, dutasteride. We measured various intraprostatic steroids such as androgens, estrogens, and progestagens in men treated with or without dutasteride and focused on a carbon 21 steroid, 20 β -OHDHP. It was found that 20 β -OHDHP activated wild and mutated androgen receptor, and promoted the growth of prostate cell lines. 20 β -OHDHP synthesized intratumorally in prostate cancer would be a potential target for castration-resistant prostate cancer.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 21-carbon steroids 5 α -reductase progestagen

1. 研究開始当初の背景

(1)前立腺癌はアンドロゲン依存性増殖であり、アンドロゲン抑制療法が標準治療として長く行われてきた。しかしながら、治療後数年で抵抗性を獲得した去勢抵抗性前立腺癌となり、新たな治療戦略の確立が求められている。前立腺組織内におけるアンドロゲン合成経路の解明が進み、アンドロゲン合成酵素阻害による組織内アンドロゲンの抑制が前立腺疾患の新たな治療戦略として注目されてきた。前立腺組織内でアンドロゲン受容体に対する生理活性の最も高いジヒドロテストステロンは主に5 α -reductaseによってテストステロンから合成されるが、5 α -reductase inhibitorであるdutasterideは、前立腺癌の大規模な化学予防研究において高悪性度前立腺癌をむしろ増加させる可能性があるという結果であった。

(2)当教室では前立腺癌に対する前立腺癌組織内にホルモン療法後も25%のジヒドロテストステロンが残存していると報告し、以後前立腺組織内における新規のアンドロゲン合成経路の解明、生体内および組織内アンドロゲン環境の変化と生物学的悪性度に関する報告を行ってきた(Nishiyama et al. Clin Cancer Res 2004, Takizawa et al. J Urol 2010, Ishizaki et al. Sci Rep 2013)。また、前立腺癌の細胞増殖にはアンドロゲンだけでなくエストロゲン受容体を介したリガンド非依存性シグナル伝達経路による増殖機構が関与していることを明らかにした(Takizawa et al. Oncotarget 2015)。前立腺癌の去勢抵抗性獲得機構の解明には、アンドロゲン、エストロゲン、プロゲステロンといった複雑な前立腺組織内のステロイド合成経路の関与が示唆されており、アンドロゲン抑制療法に伴う前立腺組織内アンドロゲン環境の変化に適応したアンドロゲン受容体活性化機構の解明が必要と考える。

2. 研究の目的

本研究は前立腺組織内アンドロゲン環境の変化に適応した細胞増殖機構を解明し、低アンドロゲン状況下の前立腺組織内でアンドロゲン受容体伝達経路がどのように維持されているのかを明らかにすることを目的とする。また、アンドロゲン受容体活性化に関わる新規のリガンドを同定し、その合成経路を標的とする選択的治療をめざし、治療の個別化に展開していくための基盤となる研究を目指す。

3. 研究の方法

(1)前立腺肥大症に対する5 α -reductase inhibitor (dutasteride)の投与下に前立腺癌と診断された症例(癌投与群)と

dutasterideの投与なく前立腺癌と診断された症例(癌未投与群)の前立腺組織を採取し、組織内のアンドロゲン、エストロゲン、プロゲステロンを質量分析法を用いて測定した。Dutasterideの投与後あるいは未投与の前立腺肥大症組織(各々、肥大症投与群、肥大症未投与群)も採取し同様に組織内ステロイドを測定した。

(2)前立腺癌および前立腺肥大症におけるアンドロゲン、エストロゲンおよびプロゲステロンの組織内濃度およびdutasteride投与による組織内ステロイド環境の変化について検証する。また、5 α -reductase inhibitorによって合成が遮断される経路を中心に、アンドロゲン受容体活性化作用をもつ可能性のあるステロイドの探索を行う。

(3)前立腺癌培養細胞を用いて着目したステロイドが上流のステロイドの投与によって細胞内で合成されるかどうか、また、アンドロゲン受容体活性化作用をもつかどうかをLC/MSおよびPSA値の測定により検証する。さらには、アンドロゲン受容体活性化の作用機序について、MTS assayによる細胞増殖機能の評価や、細胞内のアンドロゲン受容体関連遺伝子に関するmRNA変化をqRT-PCR、細胞内のシグナル伝達をレポーターアッセイを用いて測定した。

4. 研究成果

(1)癌未投与群の前立腺組織内テストステロン濃度は組織内アンドロステンジオン、プロゲステロンと相関関係にあり、組織内アンドロステンジオン濃度もプロゲステロンとの相関関係を認めた。癌投与群のGleason scoreは全例で高悪性度前立腺癌であった。癌投与群の前立腺組織内ジヒドロテストステロン濃度は癌未投与群と比較し有意に低下しており、また癌投与群の組織内テストステロン濃度は癌未投与群より高かった。癌投与群の組織内プロゲステロン濃度は未投与群と比較して高い傾向にあった。肥大症投与群では肥大症非投与群に比較して組織内エストロゲン(エストロン、エストラジオール)濃度が高値であった。5 α -reductase inhibitorにより活性型アンドロゲンであるジヒドロテストステロンは著名に低下するが、そのような組織内環境の変化の中でも、アンドロゲン受容体の活性化が続いていることが分かり、プロゲステロン濃度やエストロゲン濃度の変化も引き起こしており、前立腺組織内ステロイド環境が大きく影響されていることが解明された。

(2)質量分析法による前立腺組織内ステロイドの測定結果を解析し、dutasterideによって合成が阻害される21炭素があり、20-hydroxy-5 α -dihydroprogesterone (20-OHDHP)と考えられた。5

-dihydro-3-oxosteroid がアンドロゲン受容体活性化作用を有する事は既に報告されていたが、論文検索では 21 炭素の 20 α -OHDHP に関する報告はなかったため、20 α -OHDHP に着目して in vitro の実験に移った。

(3)変異型アンドロゲン受容体を発現している LNCaP 細胞と野生型アンドロゲン受容体を発現している VCaP 細胞の 2 種類の前立腺がん細胞株を用い、両細胞株において pregnenolone から 20 α -OHDHP が代謝生成されることが分かった。また pregnenolone と 20 α -OHDHP のいずれからも活性型アンドロゲンは代謝生成されないことも分かった。20 α -OHDHP は両細胞株のアンドロゲン受容体を濃度依存性に活性化し、細胞増殖機構に参与していることが解明された。20 α -OHDHP によって AR 関連遺伝子の発現は亢進し、シグナル伝達も濃度依存性に亢進したが、GR 関連遺伝子と PGR 遺伝子の発現は亢進しなかった。20 α -OHDHP による細胞の活性化は抗アンドロゲン薬 bicalutamide の添加で阻害された。

以上より、前立腺癌のアンドロゲン受容体の活性化およびそれを介した増殖機構は、最も強力なリガンドであるジヒドロテストステロンが低下している状態においても維持されていることが示唆された。その環境に適応機序として、プロゲスターゲンなど前立腺組織内のステロイド代謝の合成経路が複雑に参与しており、今回着目した 20 α -OHDHP はアンドロゲン受容体を活性化する直接作用を有していることが解明された。プロゲスターゲンに関しては、去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療薬である アピラテロンの投与で蓄積することが最近の報告で知られており、蓄積した前駆物質から 20 α -OHDHP の合成が促進され去勢抵抗性獲得機序に参与している可能性がある。20 α -OHDHP の合成は 5 α reductase inhibitor で阻害されるため、併用療法など新規の治療戦略の確立のため、今後も研究を継続していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Ando T, Nishiyama T, Takizawa I, Ishizaki F, Miyashiro Y, Takeda K, Hara N, Tomita Y. Dihydrotestosterone synthesis pathways from inactive androgen 5 α -androstane-3 β , 17 β -diol in prostate cancer cells: Inhibition of intratumoural 3 α -hydroxysteroid dehydrogenase activities by abiraterone. Sci Rep. 査読あり 2016 Aug 26;6:32198. doi: 10.1038/srep32198.

〔学会発表〕(計 8 件)

(1)Itsuhiro Takizawa, Fumio Ishizaki, Yoshimichi Miyashiro, Takeshi Komeyama,

Hideo Morishita, Tsutomu Nishiyama, Yoshihiko Tomita, Effect of dutasteride on intraprostatic levels of estrogens and androgens in men with benign prostatic hyperplasia. American Urological Association annual meeting, May 16, 2015, New Orleans (USA)

(2)Takashi Ando, Itsuhiro Takizawa, Fumio Ishizaki, Keisuke Takeda, Yoshimichi Miyashiro, Noboru Hara, Tsutomu Nishiyama, Yoshihiko Tomita, Blocking the intracrine back-conversion with abiraterone in prostate cancer cells. American Urological Association annual meeting, May 17, 2015, New Orleans (USA)

(3)Takashi Ando, Itsuhiro Takizawa, Tatsuhiko Hoshii, Yoshimichi Miyashiro, Noboru Hara, Tsutomu Nishiyama, Yoshihiko Tomita, A 21-carbon steroidal metabolite from progestin, 20 α -hydroxy-5 α -dihydroprogesterone, stimulates the androgen receptor in prostate cancer cells, American Urological Association annual meeting, May 15, 2017, The Boston Convention and Exhibition Center (USA)

(4)安藤嵩、瀧澤逸大、石崎文雄、宮代好通、武田啓介、田崎正行、原昇、西山勉、富田善彦、前立腺癌細胞内 3 α -androstadiol 代謝に対する CYP17A 抑制薬の影響。第 103 回日本泌尿器科学会総会 平成 27 年 4 月 19 日 ホテル日航金沢 (石川県金沢市)

(5)瀧澤逸大、石崎文雄、糸井俊之、今井智之、宮代好通、西山勉、富田善彦。診断前のデュタステリド投与が前立腺組織内アンドロゲンとプロゲスターゲン環境に与える影響。第 104 回日本泌尿器科学会総会 平成 28 年 4 月 23 日。仙台国際センター (宮城県仙台市)

(6)石崎文雄、瀧澤逸大、渡辺玄、味岡洋一、富田善彦、神経内分泌分化により急速に進行した前立腺癌の 1 例。平成 28 年 10 月 9 日 リンクステーションホール青森 (青森県青森市)

(7)安藤嵩、瀧澤逸大、星井達彦、宮代好通、原昇、西山勉、富田善彦、21 炭素ステロイド (20 α -hydroxy-5 α -dihydroprogesterone) によるアンドロゲン受容体を介した前立腺がん細胞活性化 第 26 回泌尿器分子・細胞研究会 平成 29 年 3 月 11 日 全労済ソレイユ(大分県大分市)

(8)瀧澤逸大、信下智広、山崎裕幸、丸山亮、山名一寿、笠原隆、原昇、富田善彦、新潟大

学における転移性前立腺癌に対する初回内
分泌療法の治療効果. 第 105 回日本泌尿器
科学会総会平成 29 年 4 月 23 日 城山観光ホ
テル(鹿児島県鹿児島市)

〔産業財産権〕
特記すべき事項なし

〔その他〕
ホームページ
<http://www.med.niigata-u.ac.jp/uro/index.shtml>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

瀧澤 逸大 (ITSUHIRO TAKIZAWA)
新潟大学大学院
研究者番号: 60444171

(3) 研究協力者

安藤 嵩 (TAKASHI ANDO)
宮代 好通 (YOSHIMICHI MIYASHIRO)
石崎 文雄 (FUMIO ISHIZAKI)
西山 勉 (TSUTOMU NISHIYAMA)
富田 善彦 (YOSHIHIKO TOMITA)