

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591859
 研究課題名 (和文) 11 β HSD および鉱質コルチコイド受容体調節を介した
 前立腺癌増殖制御機構の解析
 研究課題名 (英文) Analysis of prostate cancer growth regulation mediated by 11 β HSD
 and Mineralocorticoid Receptor

研究代表者 井川 掌 (IGAWA TSUKASA)
 長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師
 研究者番号：40295069

研究成果の概要：

今回の研究を通じて、前立腺癌細胞および前立腺癌組織における 11 β HSD の蛋白発現レベルは非常に低く、特異的な発現および type ごとの発現レベルパターンの比較評価は困難であった。原因として解析に用いた細胞および組織の選択、解析手法の技術的問題等が考えられるが、詳細は明らかでない。結論として、現時点では前立腺癌における 11 β HSD の役割はあっても寄与する部分は少なく、依然として可能性は有するものの、その詳細は不明であるといわざるを得ない。今後、方向性を変えたアプローチが必要であると思われる。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：泌尿器科学

科研費の分科・細目：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌の発生・進展にはアンドロゲン、とりわけ Dihydrotestosterone が深く関わっており、主としてアンドロゲン受容体を介した作用機構の変化が存在することはよく知られているが、さらに同じステロイドホルモンとして副腎由来のアンドロゲンも前立腺組織中における生物学的な役割の重要性が認識されつつある。しかしながら特に前立腺癌

におけるこれらステロイドホルモンの作用調節機構の詳細は未だ不明な点が多い。そこで今回我々は特にステロイドホルモンの調節に重要な働きを有することが知られている 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase (11 β -HSD) に注目した。この酵素にはヒトにおいて 1 型と 2 型の 2 つのアイソフォームが存在し、1 型は糖質コルチコイド (GC) であるコルチゾンをコルチゾールへ変換する reductase 活性が優位で、その結果、細胞

内のコルチゾールを蓄積させる方向に作用する。一方、2型は dehydrogenase 単方向的の酵素であり、基質のコルチゾールを活性の低いコルチゾンへ変換する。その結果、細胞内の鉱質コルチコイド (MC) 受容体 (Mineralocorticoid Receptor : MR) に高い親和性をもって結合するコルチゾールを抑制することにより本来のリガンドである鉱質コルチコイド (MC) の MR への結合を確保し、結果として MC 作用の発現を誘導するとされている。一般に GC は細胞増殖抑制効果を有することが知られているが、実際の臨床でも進行前立腺癌の治療に用いられている根拠の一部となっていると思われる。これに対して MC は本来、水・電解質代謝を調節する重要なホルモンなのであるが、近年、その古典的標的組織である腎臓、大腸以外にも心血管、唾液腺、中枢神経など幅広い組織に受容体が存在することが分かってきた。特に心血管系においては平滑筋細胞や内皮細胞の増殖にも深く関わっていることが明らかにされつつある。つまり、MC の pleiotropic action が注目されてきているということである。加えて、11 β -HSD 特に2型そのものも腫瘍 (大腸癌、乳がん) での発現増加や増殖促進効果を示すことが報告されている。このように、ヒト癌組織においても 11 β -HSD の発現変化そのもの、または MR 発現調節を介した増殖調節機構が存在している可能性は十分に推測される。中でも前立腺における 11 β -HSD の発現に関しては LNCaP 細胞での発現を報告するものや (Nath N; Prostate, 1993) ヒト前立腺組織中での発現の報告 (Albiston AL; Mol. Cell Endocrinol, 1994) があるがそれ以上の詳細は不明である。特に前立腺癌においては、ステロイドホルモン環境変化の意義は大きいと考えられ、11 β -HSD と MR による調節機構の関与には極めて興味を持たれる。

2. 研究の目的

前立腺癌の発生・進展におけるステロイドホルモンの役割は重要であるが、今回その調節に働くと考えられる 11beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase (11 β -HSD) に注目した。前立腺癌培養細胞や前立腺癌組織を用いてまずその発現状態を検討し、さらにその機能的役割について鉱質コルチコイド (MC) 受容体 (Mineralocorticoid Receptor : MR) との

関わりを中心に解析する。これにより、前立腺癌のアンドロゲン依存性における新しい制御メカニズムの存在を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

まず、ヒト前立腺癌における 11 β -HSD 1/2 および Mineralocorticoid Receptor (MR) の発現の有無を以下の検体を用いて確認する。

- (1) 前立腺癌細胞株 (LNCaP, PC-3, DU145)・・・手法として Western Blotting, Immunocytochemistry を採用する。
- (2) ヒト前立腺癌組織 (生検組織または全摘組織)・・・同意の下に提供いただいた組織を用いて主に Immunohistochemistry の手法により発現を解析する。→発現確認できなかった場合・・・関連する他の酵素、受容体の発現について同様の解析を行なう (具体的には Glucocorticoid Receptor (GR), 3 β -HSD, 17 β -HSD)。これらの発現状態と細胞種、前立腺癌の Grade との関連について検討を行なう。

→発現確認できた場合・・・引き続き以下の点、特に培養細胞を用いての解析を進める。

- ① cell line間での発現の差異の検討
- ② 11 β -HSD の発現と細胞増殖の関連の検討
- ③ アルドステロン関連遺伝子の発現解析
- ④ アルドステロン受容体拮抗薬の作用の検討

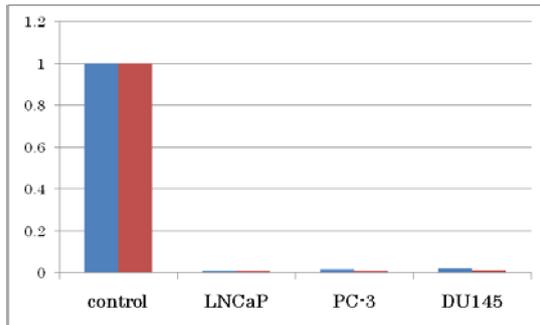
4. 研究成果

(1) ヒト前立腺癌における 11 β -HSD 1/2 および Mineralocorticoid Receptor (MR) の発現の解析

3種類の前立腺癌細胞株 (LNCaP, PC-3, DU145) における上記3種類の蛋白発現を Western blot 法にて解析した。11 β -HSD 1/2 に関しては faint なバンドが観察されたが、再現性に乏しく、いずれも特異的発現としての確認が困難であった (図1)。MR についても全体として発現レベルが低く、確認と比較は困難であった。いずれの蛋白も存在する可能性は否定できず、何らかの機能を持っていることが予想される。しかしながら MR と 11 β -HSD 1/2 との関連についての言及は今回の結果から

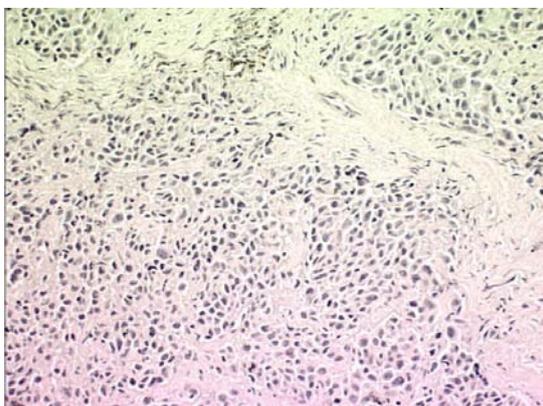
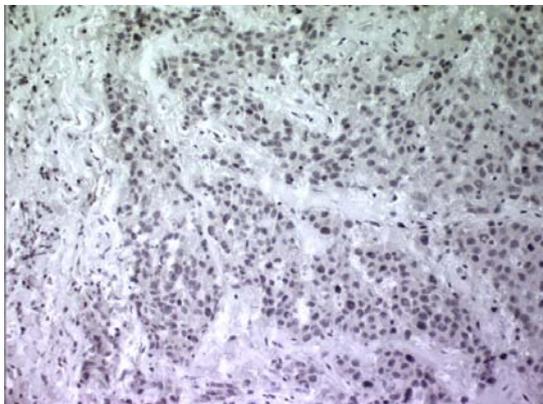
はできないと思われる。また、前立腺癌組織（生検、および全摘組織）での免疫組織染色も並行して行ったが、こちらに関しても、非特異的染色と思われるバックグラウンドレベルが比較的高いため、ブロッッキングや抗体濃度の調節など条件検討を行ったが、特異的発現は得られず結果として詳細な発現レベルや発現部位の特定には至っていない(図2)。少なくとも、癌部と非癌部において、その染色性に有意な差異は認められなかった。

(図1) 各種細胞株での 11 β -HSD 1/2 発現



(Western blotting 法, control: recombinant 11 β -HSD 1 or 2 protein
■ : 11 β -HSD 1, ■ : 11 β -HSD 2)

(図2) 前立腺全摘組織での 11 β -HSD 1/2 の免疫組織染色 (上: 11 β -HSD 1、下: 11 β -HSD 2)



(2) 前立腺癌細胞株での発現が明確に確認できなかったため、これを用いた in vitro での実験系の継続は一旦終了とし、現在もさらに条件検討を行っている。組織中での発現に関してはその他のターゲットとして、今後 Glucocorticoid Receptor(GR), 3 β -HSD, 17 β -HSD などを検討予定である。

以上の結果より、前立腺癌において、11 β -HSD 1/2 および Mineralocorticoid Receptor (MR) の役割は現時点で不明であり、今後、手法を変えたアプローチにより検討する必要があると考えられた。

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 3 件)

- ① □ Sakai H, Igawa T, Tsurusaki T, Yura M, Kusaba Y, Hayashi M, Iwasaki S, Kanetake H : Hot Flashes During Androgen Deprivation Therapy With Luteinizing Hormone - Releasing Hormone Agonist Combined With Steroidal or Nonsteroidal Antiandrogen for Prostate Cancer. *Urology* 73 : 635-640, 2009 査読あり
- ② □ Onita T, Igawa T, Hisamatsu H, Sakai H, Kanetake H. Secondary endocrine therapy with oral estrogen for relapsed prostate cancer. *Acta Urol Japonica* 55 : 595-598, 2009 査読あり
- ③ □ 井川 掌、酒井英樹、金武 洋 : 前立腺特異的チロシンフォスファターゼによるアンドロゲン非依存性前立腺癌増殖制御機構の解明 *西日本泌尿器科* 69(4): 197-203, 2007 査読なし

[学会発表] (計 4 件)

- ① 井川 掌、大仁田 亨、酒井英樹、金武 洋 : 再生検癌陽性症例の臨床背景と病理学的特徴について 第 96 回日本泌尿器科学会総会 2008 年 4 月 25 日 横浜市
- ② 計屋知彰、志田洋平、井川 掌、酒井英樹、金武 洋 : 低分子量G蛋白質発現制御を介したスタチンによるPC-3 細胞の増殖・運動抑制作用に関する基礎的研究 第 96 回日本泌尿器科学会総会 2008 年 4 月 25 日 横浜市
- ③ 井川 掌、大仁田 亨、酒井英樹、金武 洋 : 高リスク限局性前立腺癌に対する外照射併用 125I小線源療法の短期治療成績 第 46 回日本癌治療学会総会

- 2008年10月31日 名古屋市
- ④ 井川 掌、大仁田 亨、酒井英樹、金武洋：内分泌療法併用前立腺癌小線源治療施行後のPSA及びテストステロン値の変化 第45回日本癌治療学会総会
2007年10月24日 京都市

〔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

井川 掌 (IGAWA TSUKASA)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・講師
研究者番号：40295069

(2) 研究分担者

酒井 英樹 (SAKAI HIDEKI)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号：40235122

金武 洋 (KANETAKE HIROSHI)
長崎大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号：50100839

(3) 連携研究者