

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09580

研究課題名（和文）前立腺癌におけるHumanized HGF SCIDマウスを用いた新規治療の開発

研究課題名（英文）Development of a novel treatment for prostate cancer using humanized HGF SCID mice

研究代表者

寺田 直樹 (Terada, Naoki)

福井大学・学術研究院医学系部門・教授

研究者番号：60636637

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：新たに樹立したヒトHGF産生能を持つHumanized HGF SKIDマウスに、以前より樹立してきた前立腺癌Patient derived xenograft(PDX)であるKUCaPを移植し、HGF-METパスウェイを標的とする新規転移性前立腺癌治療法の開発を目指した研究を計画したが、Humanized HGF SKIDマウス繁殖が困難であった。そこで、ドキシサイクリン投与でHAL-2を発現する腎癌細胞株である786-O-HAL-2を用いて、MET阻害薬とHAL-2の強制発現の併用により腫瘍増殖抑制効果が増強することを示し、今後の前立腺癌細胞における研究へとつながる結果を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨転移を有する前立腺癌患者の予後は不良であり、新たな骨転移治療法の開発は急務である。METは前立腺癌骨転移で発現が高く、骨転移を有する前立腺癌患者に対するMET阻害薬の有効性が報告されたが、副作用の多さもあり、現時点では臨床での使用には至っていない。今後、前立腺癌におけるMET-HGFパスウェイを標的とした治療が開発されれば、骨転移を有する予後不良な前立腺癌患者に対して多大なる恩恵を与えることができ、社会的意義が高い。

研究成果の概要（英文）：Newly established humanized HGF-producing human HGF SKID mice were transplanted with KUCaP, a previously established prostate cancer patient derived xenograft (PDX), to develop a novel HGF-MET pathway targeting treatment for metastatic prostate cancer. However, it was difficult to breed Humanized HGF SKID mice. Therefore, using 786-O-HAL-2, a renal cell carcinoma cell line that expresses HAL-2 upon administration of doxycycline, we investigated that the combined use of MET inhibitors with the enhancement of HAL-2 expression inhibit the cell proliferation. These results might be connect to future research on prostate cancer.

研究分野：泌尿器科癌

キーワード：前立腺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

概要) 骨転移を有する前立腺癌患者の予後は不良であり、新たな骨転移治療法の開発は急務である。MET は前立腺癌骨転移で発現が高く、骨転移を有する前立腺癌患者に対する MET 阻害薬の有効性が報告されたが、副作用の多さもあり、現時点では臨床での使用には至っていない。MET のリガンドである hepatocyte growth factor(HGF)は、マウスとヒトで相同性が無く、通常の免疫不全マウスではその阻害薬の有効性の評価が困難である。我々が新たに樹立したヒト HGF 産生能を持つ Humanized HGF SKID マウス(以下 HGF マウス)に、以前より樹立してきた前立腺癌 Patient derived xenograft(PDX)である KUCaP を移植し、HGF-MET パスウェイの中で、特に HGF 活性化に關与する細胞膜結合型セリンプロテアーゼ (TTSP) を標的とする新規転移性前立腺癌治療法の開発を目指す。

2. 研究の目的

前立腺癌における HGF シグナルの腫瘍への影響を確認する。また、HGF 活性化に關与する Matriptase や Hepsin、およびこれらの制御因子である HGF activator inhibitor(HAI)による HGF-MET パスウェイへの影響と腫瘍増殖や遊走への影響を解析する。さらに HGF 活性化に關与する TTSP を標的とする新規転移性前立腺癌治療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

前立腺癌と同じく泌尿器科の癌である腎癌細胞を用いた実験を行った。当研究室ではドキシサイクリン投与で HAI-2 を発現する腎癌細胞株である 786-0-HAI-2(図 1)を保持しており、これを用いて HAI-2 の腫瘍細胞への影響を解析した。

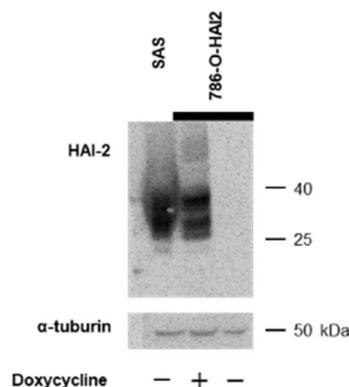


図 1

4. 研究成果

(1)HAI-2 の腫瘍細胞に対する in vitro での影響

HGF propeptide(Pro-HGF)による MET リン酸化がドキシサイクリンによる HAI-2 の強制発現により抑制されることをウエスタンブロッティングで確認した(図 2)。

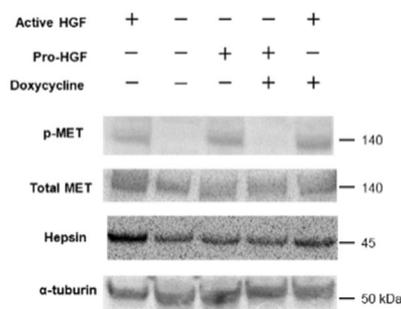


図 2

また、MTS 法による細胞増殖試験にて、MET 阻害薬である SCC244 による細胞増殖抑制効果が、ドキシサイクリンによる HAI-2 の強制発現により増強されることを確認した(図 3)。

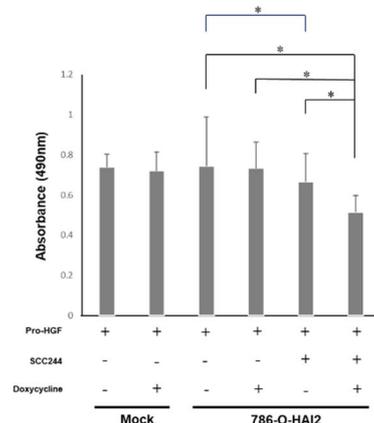


図 3

## (2)786-0-HAI-2 の HGF マウス皮下移植

HGF マウスおよび wild-type CB17 SCID マウスの皮下に 786-0-HAI-2 を移植したところ、図 4 の通り HGF マウスで有意に腫瘍増大が顕著であった。このことから in vivo でも HGF による腫瘍増大への影響が示唆された。

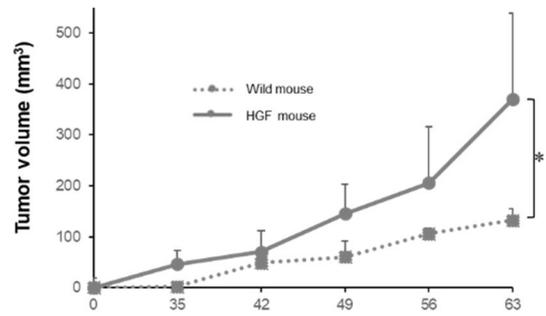


図 4

## (3)HGF マウスを用いた MET 阻害薬と HAI-2 強制発現併用療法の治療効果の検証実験

HGF マウスに 786-0-HAI-2 を皮下移植し、vehicle 群、ドキシサイクリン単独投与群、SCC244 単独投与群、SCC244 とドキシサイクリン併用群の 4 群に分けて治療を行った。図 5 の通り、SCC244 単独投与群および SCC244 + ドキシサイクリン併用群が vehicle 群と比べて優位に腫瘍増大が抑制されたものの、SCC244 単独群と SCC244 + ドキシサイクリン併用療法群との間に有意な差を認めなかった。

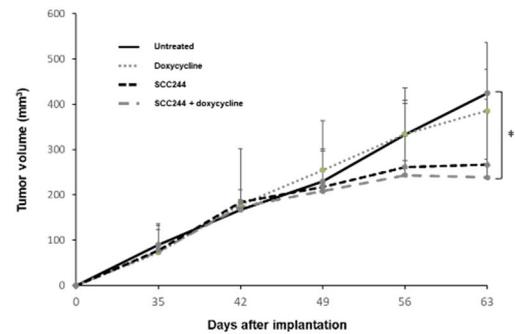


図 5

以上の結果から、腎癌細胞株において、MET 阻害薬と HAI-2 の強制発現の併用により in vitro では腫瘍増殖抑制効果の増強を認めたが、生体内では HAI-2 強制発現による上乗せ効果を認めなかった。

今後は前立腺癌細胞を用いて同様の実験を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fujii Masato, Akioka Takahiro, Kimura Shoichi, Nagai Takahiro, Kiwaki Takumi, Fukushima Tsuyoshi, Mukai Shoichiro, Kamoto Toshiyuki	4. 巻 36
2. 論文標題 Possible role of combined therapy targeting MET and pro-HGF activation for renal cell carcinoma: analysis by human HGF-producing SCID mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Human Cell	6. 最初と最後の頁 775-785
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13577-023-00857-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagai Takahiro, Terada Naoki, Fujii Masato, Nagata Yasuhisa, Nakahara Kozue, Mukai Shoichiro, Okasho Kosuke, Kamiyama Yuki, Akamatsu Shusuke, Kobayashi Takashi, Iida Kei, Denawa Masatsugu, Hagiwara Masatoshi, Inoue Takahiro, Ogawa Osamu, Kamoto Toshiyuki	4. 巻 6
2. 論文標題 Identification of the 2 chain of interleukin 13 receptor as a potential biomarker for predicting castration resistance of prostate cancer using patient derived xenograft models	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Reports	6. 最初と最後の頁 1701-1701
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cnr2.1701	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	賀本 敏行  (Kamoto Toshiyuki)  (00281098)	宮崎大学・医学部・教授   (17601)	
研究分担者	向井 尚一郎  (Mukai Shoichiro)  (10315369)	宮崎大学・医学部・准教授   (17601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------