

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791658

研究課題名(和文)再燃前立腺癌で生じる酸化ストレス機構をターゲットにした分子標的治療法の開発

研究課題名(英文)GPX2 overexpression is involved in cell proliferation and prognosis of castration resistant prostate cancer

研究代表者

内木 拓 (NAIKI, Taku)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：50551272

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌において最大の問題点は、去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)の発症機序が明らかでなく、有効な治療がないことである。私たちは以前、ヒトのCRPCを忠実に再現したモデル動物を樹立した。今回そのモデル解析にて、去勢抵抗性前立腺癌発症に関わる遺伝子Glutathione peroxidase 2 (GPX2)を同定した。さらに、機能解析にて、CRPCでは、GPX2の発現上昇を誘導することで細胞内ROSを制御し、増殖促進に深く関与していることが明らかとなった。以上の結果からGPX2は去勢抵抗性獲得の予後マーカーとして有用であり、CRPC治療の標的分子候補となりうることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Prostate cancer generally acquires castration-resistant growth capacity with progression, resulting in resistance to anti-androgen therapy. Therefore, identification of genes that are regulated through this process may be important. We previously established a new castration-resistant prostate cancer (CRPC) metastatic model. We found that the glutathione peroxidase 2 (GPX2) gene was overexpressed in CRPC model, and we presented novel data showing that silencing of GPX2 by siRNA caused significant growth inhibition, and increased intracellular ROS in CRPC. Analyses of prostatectomy specimens demonstrated that GPX2 expression was significantly higher in residual cancer foci after hormone therapy than in hormone naive cancer foci. Moreover, patients with highly expressed GPX2 in biopsy specimen had significantly lower prostate-specific antigen recurrence-free survival and overall survival than those negative for GPX2. These findings suggest that GPX2 may be therapeutic target for CRPC.

研究分野：泌尿器科学

科研費の分科・細目：腫瘍学

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 酸化ストレス Glutathione peroxidase 2 動物モデル

1. 研究開始当初の背景

ホルモン療法は前立腺癌の標準治療のひとつであるが、治療開始後約2年でホルモン療法抵抗性前立腺癌(去勢抵抗性前立腺癌)へと移行し骨へと転移するため、その増殖機構の解明に基づいた新たな治療法の開発が急務である。しかし、去勢抵抗性前立腺癌の増殖メカニズムに関しては不明な点が多く、ヒトの病態を良く模倣した、動物モデルはほとんどない。

2. 研究の目的

私たちはこれまで、独自の去勢抵抗性前立腺癌転移モデルを樹立し、未解明だった増殖メカニズムの解析を行ってきた。そして、モデル解析によって、抵抗性獲得とともに発現が上昇する、これまでに報告のない遺伝子 Glutathione Peroxidase 2 (GPX2)を同定した。この成果を用い本研究では、GPX2に着目した去勢抵抗性前立腺癌に対する新しい遺伝子治療法開発のための、基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

(1) CRPCモデルにおいて、免疫組織学的にGPX2の発現を検証した。さらに、去勢抵抗性前立腺癌細胞株 PCai1 および PC3 を用いて、siRNAにてGPX2の発現を特異的に抑制し、細胞増殖に及ぼす影響を cell count で検証し、western blotting や flow cytometry でメカニズムを調べる。

(2) 日本エスエルシー株式会社から購入した、8週令 KSN nu-nu 雄ヌードマウスを用いる。去勢術後および未処置ヌードマウスに、GPX2 siRNA もしくはネガティブコントロールを導入した PCai1 を皮下移植する。その後、腫瘍体積の変化を計測する。

(3) 前立腺全摘検体を用いて、ネオアジュバントホルモン療法後の検体と、治療

を行っていない検体での GPX2 発現を免疫組織学的に検証する。

(4) 前立腺針生検検体を用いて、GPX2の免疫染色を行い、発現のある症例となない症例における予後解析を行う。

4. 研究成果

(1) CRPCモデルを用いたGPX2免疫染色により、去勢抵抗性癌では、通常の前立腺癌よりもGPX2の発現が著明に更新していることが分かった(図1)。そして、PCai1およびPC3においてsiRNAによってGPX2発現を抑制すると、細胞増殖が著明に抑制され、細胞内酸化ストレス(ROS)産生が有意に増加した。Flow cytometryとwestern blottingからは、その増殖抑制効果はcyclin B1依存性のcell cycle arrestであることが判明した。

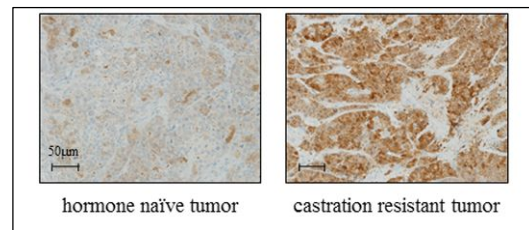


図1 GPX2の免疫染色結果

左:通常の前立腺癌 右:去勢抵抗性癌

(2) siRNA導入細胞株は、対照群と比較して去勢マウスでの造腫瘍性が有意に抑制され、GPX2は去勢環境下での腫瘍増殖に促進的に関与することが明らかとなった。

(3) ヒト前立腺癌ネオアジュバント療法施行および非施行症例において、癌細胞におけるGPX2発現を全摘手術標本を用いて免疫組織学的に検討した。その結果、ネオアジュバント症例での残存癌病巣において、GPX2の発現上昇を認めた(図2)。さらにヒト生検検体を用いた解析では、GPX2陰性例は陽性例に比較して、PSA

recurrence-free survivalおよびOverall survivalが有意に高かった。

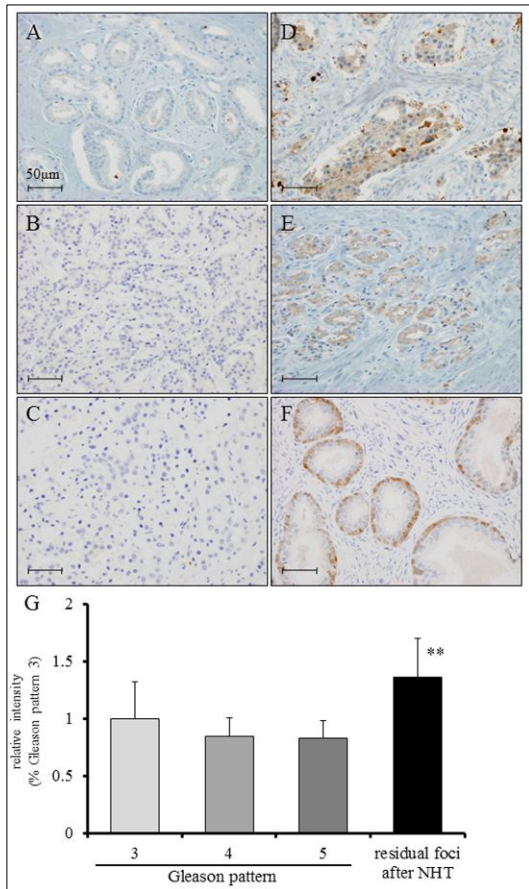


図2 上段:ヒト検体におけるGPX2免疫染色
A: Gleason pattern 3, B: Gleason pattern 4,
C: Gleason pattern 5, D, E: ホルモン療法後の
residual cancer foci, F: 正常腺管

これらの結果から、CRPCでは、GPX2の発現上昇を誘導することで細胞内ROSを制御し、増殖促進に深く関与していることが明らかとなった。以上の結果からGPX2は去勢抵抗性獲得の予後マーカーとして有用であり、CRPC治療の標的分子候補となりうることが示唆された。

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1件)

Naiki T, Naiki-Ito A, Asamoto M, Kawai N, Tozawa K, Etani T, Sato S, Suzuki S, Shirai T, Kohri K, Takahashi S : GPX2

is involved in cell proliferation in castration resistant prostate cancer. Carcinogenesis 2014, [Epub ahead of print]

[学会発表](計5件)

内木 拓 : 酸化ストレス応答機構を標的とした去勢抵抗性前立腺癌の病態解明と臨床応用

第102回日本泌尿器学会総会ヤングリサーチグラント(招待講演)、2014.4.25、神戸市

内木 拓 : 去勢抵抗性前立腺癌の発症に関わる遺伝子 GPX2 の同定とその機能解析

第63回日本泌尿器学会中部総会ヤングリサーチシンポジウム(招待講演)、2013.11.29、名古屋市

Naiki T, Naiki-Ito A, Asamoto M, Ando R, Etani T, Iida K, Kawai N, Kohri K, Takahashi S : GPX2 is a novel prognostic marker of castration resistant prostate cancer.

第72回日本癌学会学術総会、2013.10.3、横浜市

Naiki T, Asamoto M, Naiki-Ito A, Kawai N, Tozawa K, Ando R, Etani T, Ikegami Y, Naruyama Y, Fukuta K, Hashimoto Y, Akita H, Nagata D, Yamada K, Okamura T, Takahashi S, Kohri K : Glutathione peroxidase 2 is a potential therapeutic molecule for castration-resistant prostate cancer AUA annual meetings 2013.5.4-8, SanDiego, USA

内木 拓, 朝元 誠人, 内木 綾, 河合 憲康, 安藤 亮介, 恵谷 俊紀, 戸澤 啓一, 高橋 智, 郡 健二郎 : 去勢抵抗性前立腺癌の発症に関わる GPX2 の同定とその機能解析

第101回日本泌尿器科学会総会、2013.4.25-28、札幌市

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

内木 拓 (NAIKI TAKU)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・臨床研究医

研究者番号 : 50551272