

令和元年6月7日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10995

研究課題名(和文) 前立腺癌に対するX線及び重粒子治療におけるスタチン併用効果の基礎的研究

研究課題名(英文) Combination therapy with X-ray or heavy ion therapy and statin for prostate cancer

研究代表者

関根 芳岳 (Sekine, Yoshitaka)

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：00516370

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)：ホルモン非依存性前立腺癌細胞株でのスタチン投与後の遺伝子発現変化を解析した結果、数多くのDNA修復関連遺伝子の発現が低下した。次に同細胞株へX線や重粒子を照射し、増殖に対するスタチンとの併用効果について検討を行ったところ、スタチンとX線や重粒子を併用により、更なる細胞増殖抑制効果を認めた。また、PARP阻害剤のオラパリブとスタチンとの併用効果を検討したところ、オラパリブとスタチンを併用するとホルモン非依存性前立腺癌細胞株において、それぞれ単剤よりも更なる細胞増殖抑制効果を認められた。以上より、去勢抵抗性前立腺癌に対してスタチンは放射線照射やPARP阻害剤との併用効果の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌患者は、日本において増加傾向にあり、新規アンドロゲン剤や抗癌剤が無効な患者に対する新規治療の開発は急務である。スタチンは、高脂血症に対して広く使用されている薬剤であるため、もし癌治療に応用することができれば、臨床的には使用しやすいことが予想される。まだまだ追加の研究が必要ではあるが、今回の研究結果において、現在、治療に難渋している去勢抵抗性前立腺癌に対して、スタチンが放射線やPARP阻害剤などの併用で、治療効果がある可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Statin decreased many gene expressions, which are related to DNA repair, in androgen independent prostate cancer cells. The combination of X-ray or heavy ion therapy and simvastatin further enhanced the inhibition of cell proliferation compared with treatment with either treatment alone in androgen independent prostate cancer cells. Moreover, the combination of Olaparib and simvastatin further enhanced the inhibition of cell proliferation compared with treatment with either drug alone in androgen independent prostate cancer cells, but not in normal prostate stroma cells. These data suggested that the combination of radiation or PARP inhibitor and statin can potentially affect castration-resistant prostate cancer growth.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 スタチン 放射線 重粒子 PARP阻害剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国において近年前立腺癌は著しく増加しており、新しい治療法を導き出すことが急務である。HMG-CoA 還元酵素阻害薬であるスタチンは高コレステロール血症の治療薬として広く使用されているが、抗腫瘍効果のあることが知られている。我々はスタチンの前立腺癌細胞に与える影響につき検討し、スタチンの投与により、前立腺癌増殖において重要な役割を果たす IGF-1R や ABCA1 の発現が低下し、IGF 1 や HDL による ERK1/2 や Akt の活性化及び前立腺癌細胞増殖を阻害する (Sekine Y, et al. Biochemical and Biophysical Research Communications 2008、Sekine Y, et al. Molecular Cancer Research 2010) こと、平成 23 - 24 年度の科研費「若手研究 B ;スタチンによる、miRNA を介した前立腺癌増殖制御機構の解明」において、スタチン投与によって発現が上昇していた miR-210 が、ホルモン非依存性前立腺細胞株 PC-3 の細胞増殖及び遊走抑制効果に重要な役割を果たしていること、また平成 25-26 年度の科研費「若手研究 B ;去勢抵抗性前立腺癌でのスタチンによる腫瘍内アンドロゲン de novo 合成への影響」において、スタチン投与により AKR1C3 の発現が上昇し、AKR1C3 の阻害作用を持つ NSAIDs をスタチンと併用する事で、更なる PC-3 の細胞増殖及び遊走抑制効果を引き起こすこと (いずれも論文作成中) などを見いだした。しかし、スタチンによる前立腺癌増殖抑制機構については、いまだ不明瞭な点も多く、解明することで新たな治療法へつながる可能性が示唆される。

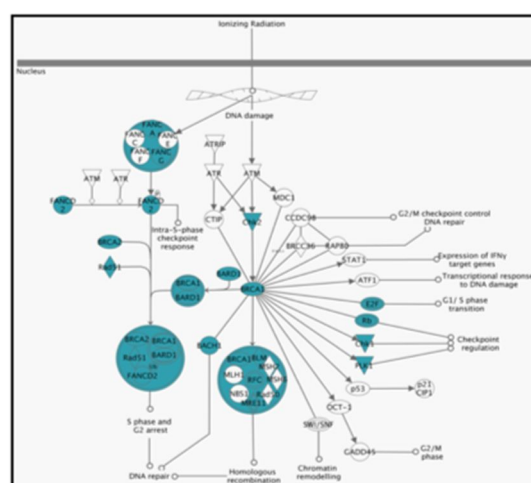
今回、我々は、平成 23-24 年度の科研費で行った、シンバスタチン投与後の PC-3 細胞における mRNA の遺伝子変化 (マイクロアレイ) の結果についてパスウェイ解析を行ったところ、表 1 の結果を得た。最も変化の見られたパスウェイとして、「Role of BRCA1 in DNA Damage Response」がピックアップされ、この経路は、図 1 の様に放射線障害を DNA が受けた際に DNA 修復 (相同組換え) に働く遺伝子群であり、これらの遺伝子の発現が低下することで、この経路がうまく働かず、X 線に対する感受性が高くなることが予想される。これまで、前立腺癌において、スタチン内服と放射線治療効果については、スタチン内服群では放射線治療後の再発が少ないこと (Gutt R, et al. J Clin Oncol. 2010、Kollmeier MA, et al. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2011、Oh DS, et al. World J Urol. 2014) が報告されているが、そのメカニズムについての報告はほとんど行われていない。

<表 1>

	Pathways	DEGs	p-value
1	<u>Role of BRCA1 in DNA Damage Response</u>	23	6.82E-11
2	Cell Cycle Control of Chromosomal Replication	12	3.81E-07
3	Role of CHK Proteins in Cell Cycle Checkpoint Control	17	5.82E-07
4	Mitotic Roles of Polo-Like Kinase	19	1.35E-06
5	Hereditary Breast Cancer Signaling	25	3.05E-06
6	Estrogen-mediated S-phase Entry	10	7.42E-06
7	ATM Signaling	15	4.68E-05
8	Cell Cycle: G2/M DNA Damage Checkpoint Regulation	12	0.000100432
9	Mismatch Repair in Eukaryotes	6	0.001050571

DEGs; differentially expressed genes

<図 1>



2. 研究の目的

本研究において、スタチン投与による遺伝子変化が、放射線感受性へ影響を与えるのかどうかを明らかにし、前立腺癌におけるスタチンと X 線や重粒子治療との併用効果について解析したいと考えている。また、BRCA1 とは別の機序 (塩基切断修復) で DNA 修復に働く PARP 阻害剤 (乳

癌などで臨床試験中)を併用する事で、スタチン+PARP 阻害剤の併用による相乗・相加効果の有無を検討し、前立腺癌放射線治療におけるスタチン/RARP 阻害剤の併用薬としての可能を検討したいと考えている。

3. 研究の方法

microarray の結果に関しては、Ingenuity Pathway Analysis を行なった。前立腺癌細胞株 PC-3、22Rv1、LNCaP、charcoal stripped FBS を使用した培地にて長期培養して樹立したホルモン非依存性 LNCaP (LNCaP-LA)、正常前立腺間質細胞 (PrSC) を使用し、シンバスタチン投与後の、定量的 PCR や WB による、「Role of BRCA1 in DNA Damage Response」でピックアップされた、BRCA1 などの各遺伝子の発現変化の評価を行った。また細胞増殖は MTS アッセイ、cell count により評価した。

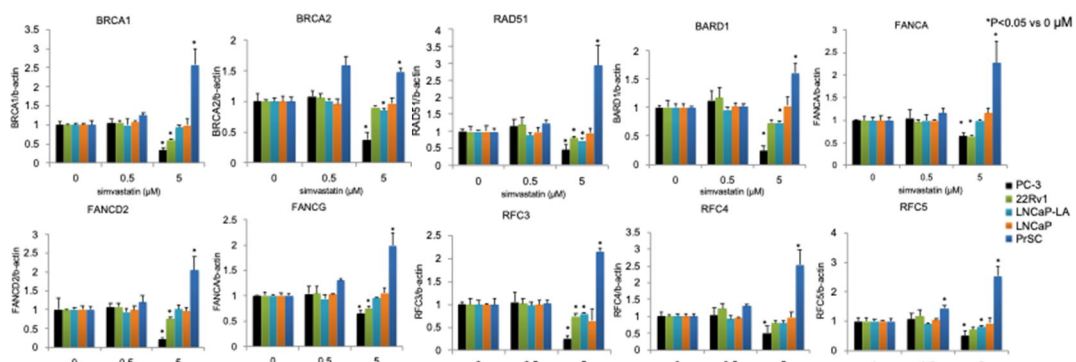
4. 研究成果

simvastatin により PC-3 で多くの遺伝子発現変化を認め、Ingenuity Pathway Analysis の結果、「Role of BRCA1 in DNA Damage Response」が最も遺伝子変化を認めた経路であった。qPCR や WB で遺伝子発現変化を確認したところ、その経路内の BRCA1/BRCA2/RAD51/BARD1/FANCA 等の DNA 修復遺伝子の発現低下を認めた。また simvastatin にて LNCaP-LA や 22Rv1 でも、同様にその経路内の遺伝子が発現低下したが、PrSC では上昇した (図 2)。次にホルモン非依存性前立腺癌細胞株へ X 線および重粒子を照射し、細胞増殖に対するスタチンとの併用効果について、MTS や cell count にて評価したところ、PC-3、LNCaP-LA、22RV-1 では、スタチンと X 線を併用することで、さらなる細胞増殖抑制効果を認めた (図 3)。また、重粒子に関しては、条件設定に時間がかかったが、PC-3 において、スタチンと重粒子を併用することで、増殖抑制効果を認めた (図 4)。

さらに、DNA 修復遺伝子群の発現をスタチンが低下させたことから、PARP 阻害剤との併用効果についても評価した。まず、PC-3 と LNCaP-LA において BRCA1 や BRCA2 を siRNA でノックダウンし、PARP 阻害剤であるオラパリブ を投与したところ、control 群に比べ更なる細胞増殖効果を認めた。さらにスタチンとオラパリブ を併用すると PC-3、22Rv1、LNCaP-LA において、それぞれ単剤よりも更なる細胞増殖抑制効果を認めたが、PrSC では認めなかった (図 5)。

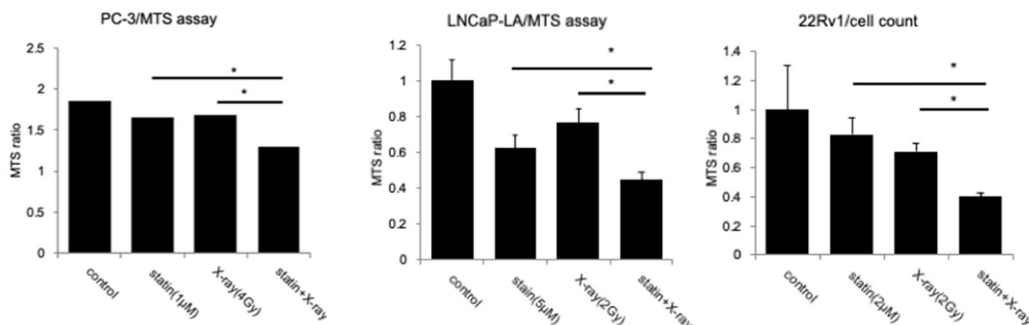
以上より、今後の追加の研究が必要ではあるが、今回の研究結果において、現在、治療に難渋している去勢抵抗性前立腺癌に対して、スタチンが放射線や PARP 阻害剤などの併用で、治療効果がある可能性が示唆された。今後はさらに、スタチン + 放射線 + PARP 阻害剤の併用効果の有無についても、検討していきたい。

< 図 2 > simvastatin 投与後 48 時間での mRNA の変化



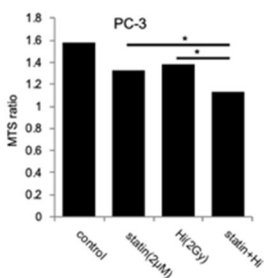
< 図 3 > X線とスタチンとの併用効果

* p<0.05



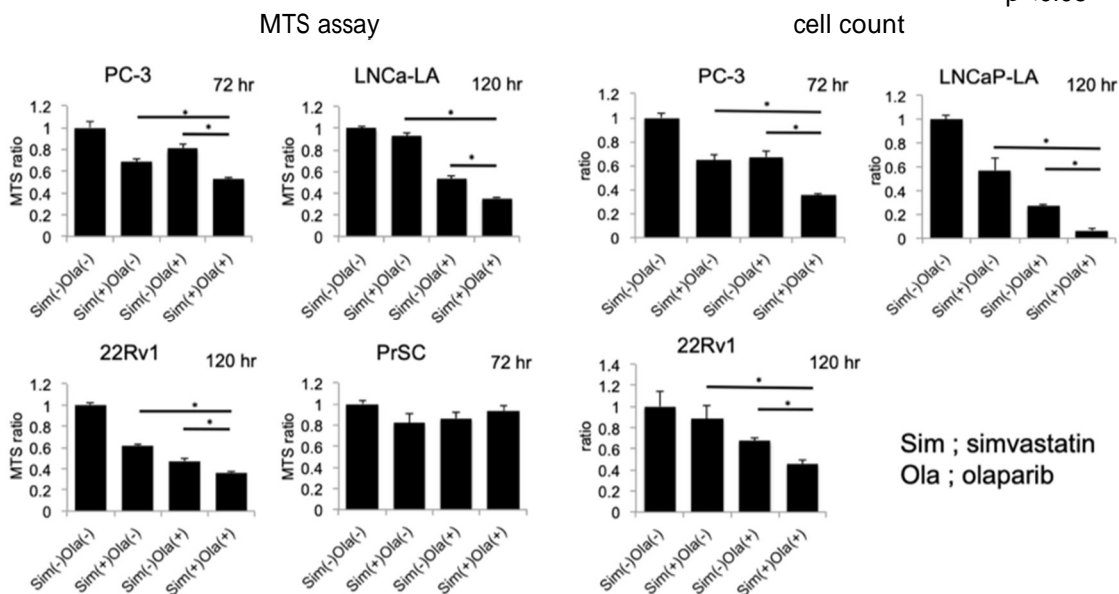
< 図 4 > 重粒子とスタチンとの併用効果

* p<0.05



< 図 5 > スタチンと PARP 阻害剤 との併用効果

* p<0.05



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

1. 関根芳岳、岡大祐、中山紘史、宮澤慶行、宮尾武士、栗原聡太、小池秀和、松井博、柴田康博、鈴木和浩、DNA 修復遺伝子群を介したスタチンと PARP 阻害剤の併用による去勢抵抗性前立腺癌細胞増殖抑制効果の解明、第 107 回日本泌尿器科学会総会、2019 年
2. Yoshitaka Sekine, Daisuke Oka, Hiroshi Nakayama, Yoshiyuki Miyazawa, Hidekazu Koike, Hiroshi Matsui, Yasuhiro Shibata, Kazuhiro Suzuki, Combination therapy with PARP inhibitor and statin for castration-resistant and taxane-resistant prostate cancer, 第 114 回米国泌尿器科学会、2019 年

[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〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。