

令和 5 年 6 月 17 日現在

機関番号：31305

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2022

課題番号：18K06995

研究課題名(和文) 新たな前立腺癌治療の可能性の探索 グルココルチコイド受容体発現意義の解明

研究課題名(英文) Exploration of new potential prostate cancer therapies - the significance of glucocorticoid receptor expression.

研究代表者

端 秀子 (Hata, Shuko)

東北医科薬科大学・医学部・助教

研究者番号：90466532

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌においてグルココルチコイド受容体(GR)の発現が報告されており、GRは癌の増殖や進展に関与している可能性が示唆されている。前立腺癌におけるGRとその関連因子であるGR、SGK1、NDRG1について免疫組織化学的に検討し、臨床病理学的因子との関係の解析を行った。GRとNDRG1はpTステージと逆相関し、GRとKi67スコアは相関した。また、GRとNDRG1は相関した。一方、GRとSGK1は有意な関連性が認められなかった。以上のことから、GRおよびNDRG1の発現状況は前立腺癌患者の臨床病理学的特徴と相関していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

GRは癌の増殖や進展に関与している可能性が示唆されているが、臓器によって影響が異なる報告がなされており、前立腺癌においても十分に解明されていない。本研究では、GRとその関連因子の発現状況を検討した。GRおよびNDRG1は癌の初期に高発現し、癌抑制に働いており、発現が低下すると癌の進展が抑制されなくなることが示唆された。これらの発現状況を検討することで前立腺癌患者の予後予測に寄与する可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：Glucocorticoid receptor (GR) has been implicated in prostate carcinoma growth and progression. The association between the status of GR, GR, SGK1, and NDRG1 immunoreactivity and clinicopathological variables was analyzed in patients with prostate carcinoma to explore their clinical significance. In prostate carcinoma cases, the relative abundance of GR and NDRG1 immunoreactivity was inversely and significantly associated with the primary tumor stage (pT), while GR immunoreactivity was inversely and significantly associated with the Ki67 score. The relative expression status of NDRG1 was significantly associated with that of GR. However, no significant correlation was observed between any of the clinicopathological parameters and GR and SGK1 expression. Our findings indicate that GR and NDRG1 expression status is correlated with clinicopathological features in patients with prostate cancer.

研究分野：人体病理学

キーワード：前立腺癌 GR SGK1 NDRG1 primary tumor (pT) stage

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人男性の前立腺癌罹患率は現在胃癌を抜いて1番多く(2018年)、増加傾向にある[がん登録・統計、がん情報サービス]。前立腺癌の治療方法としては、手術・放射線・抗ホルモン療法等があり、抗ホルモン療法は前立腺癌に広く用いられているが、去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)へと移行することが問題点である。その一因として、前立腺癌組織局所で過剰産生されたアンドロゲンが癌細胞に発現するアンドロゲン受容体(AR)に作用して癌細胞の増殖に関与することが重要である。また、前立腺癌細胞でARをノックダウンすると、同細胞でのグルココルチコイド受容体(GR)発現は上昇し、逆にProstate-specific antigen (PSA)の発現は減少して腫瘍が縮小すると報告されている[Xie N, et al., Int J Cancer, 2014]。そのほかCRPCに対する外因性グルココルチコイドの臨床効果に関して、デキサメタゾンを投与するとほぼ50%の患者にPSAの減少が認められ、予後良好であったとの報告がある[Nishumura K, et al., Cancer, 2000; Shamash J, et al., Cancer, 2010]。このように、グルココルチコイドは一般的に癌抑制と考えられている。一方、乳癌においては、GRの発現はエストロゲン受容体(ER)陰性癌と、ER、プロゲステロン受容体(PR)、human EGFR-related 2 (HER2)すべてに陰性の癌(TNBC)で予後が悪いという報告がなされている[Abduljabbar R, et al., Breast Cancer Res Treat, 2015]。更に、GR活性は前立腺癌と乳癌に重要な役割があり、前立腺癌では難治性のCRPC症例、乳癌ではER陰性例、抗エストロゲン製剤抵抗性例においてGRがARまたはER活性に依存して機能しているとの報告がある[Kach J, et al., Sci Transl Med, 2015]。このようにGRの発現が癌の増殖や進展に関与している可能性が示唆されているが、その知見は少ない。GRおよびGR関連因子の発現動態や機能解析をすることは、新たな前立腺癌治療法や予後予測の可能性に寄与するものと考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、「前立腺癌におけるGRの発現・機能解析を行い、GRの発現意義を解明して新たな前立腺癌治療法の可能性を探索すること」である。前述のような観点から前立腺癌のGRに関する検討を行った報告は殆どなく、GRとそのGR関連因子を病理組織学的に解析することで前立腺癌の生物学的特徴を理解し、臨床において応用をする上で貴重な情報提示につながる可能性が期待される。

3. 研究の方法

(1)免疫組織化学

東北大学病院の前立腺癌手術症例のうち、術前に放射線療法、化学療法、ホルモン療法を受けていない101例のホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いた(東北大学大学院医学系研究科倫理委員会承認済)。免疫組織化学的解析にはヒストファイブキット(ニチレイ、東京)を用いた。GR、GRのアイソフォームであるGR β 、GR関連因子であるserum-and glucocorticoid-regulated kinase 1 (SGK1)、N-myc down regulated gene 1 (NDRG1)の発現を検討し、臨床病理学的因子との関係を解析した。また、癌細胞の増殖能評価の為に細胞増殖マーカーであるKi67の発現を検討した。

(2)統計解析

統計解析ソフトはJMP Pro 16.1.0 (SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)を用いた。臨床病理学的因子と免疫反応性には、ノンパラメトリックWilcoxon順位和検定、Kruskal-Wallis検定、Fisher's 正確確率検定を用いて解析した。統計的有意差は $p < 0.05$ とした。

4. 研究成果

GR、GR β 、Ki67は核、SGK1、NDRG1は主に細胞質に染色された。代表的な染色像を図1~3に示す。GR、GR β 、Ki67は癌細胞の核を500個カウントし、陽性細胞の割合(%)を求めるLabelling Index(LI)を用いた。SGK1、NDRG1は染色強度を0~3の4段階に評価した。SGK1、NDRG1は更に0、1をLow、2、3をHighと定義した。

図1. GR、GR β の高発現例と低発現例

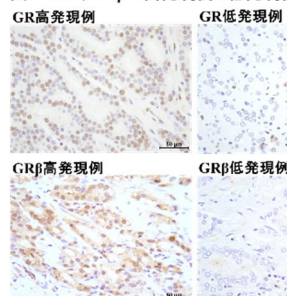


図2. SGK1の発現強度例

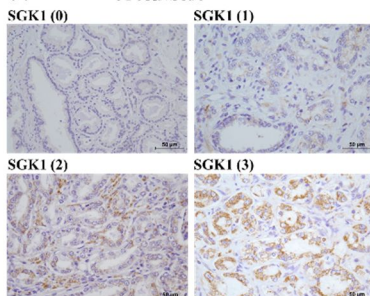
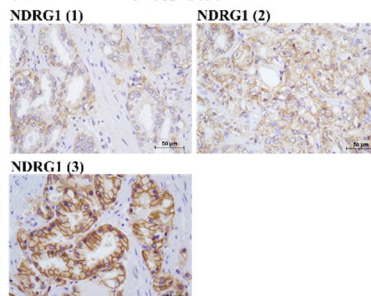


図3. NDRG1の発現強度例



GR、GRβ、SGK1、NDRG1 の癌細胞での発現を年齢、pT ステージ分類、Gleason score、PSA レベル、Ki67 それぞれと比較した。GR の発現は pT ステージ分類(癌の深達度)において pT2 から pT3 にかけて有意に発現が低下し(p=0.0053)、GR の発現は Ki-67 低値群で発現が高いことが認められ(p=0.0464)、逆相関していた(表 1)。GRβ の発現は殆ど認められず、臨床病理学的因子との有意な関連性は認められなかった。また、GR と GRβ の発現を比較して有意な相関は認められなかった。

表1 ヒト前立腺癌におけるGRおよびGRβの発現と臨床病理学的パラメータの相関性

Characteristic	n=101	GR LI (%)			p-value	GRβ LI (%)			p-value	
		mean	median	range (min - max)		mean	median	range (min - max)		
Age ^{a)}	<65 y.o.	51 (50.5%)	50.5	53.1	(4.7 - 94.3)	0.1016	4.0	1.4	(0 - 31.2)	0.2340
	≥65 y.o.	50 (49.5%)	42.0	39.9	(4.1 - 93.3)		4.2	2.8	(0 - 29.4)	
pT stage ^{a)}	pT2	56 (55.4%)	52.9	55.8	(4.7 - 94.3)	0.0053*	4.3	2.2	(0 - 31.2)	0.4713
	pT3	45 (44.6%)	38.1	29.6	(4.1 - 86.6)		3.9	1.8	(0 - 29.4)	
Gleason score ^{b)}	6	22 (21.8%)	54.7	62.4	(4.7 - 89.3)	0.1763	4.3	2.4	(0 - 31.2)	0.9491
	7	42 (41.6%)	46.8	46.3	(4.1 - 94.3)		3.5	2.0	(0 - 18.8)	
	≥8	37 (36.6%)	40.8	35.3	(4.7 - 86.3)		4.6	1.8	(0 - 29.4)	
serum PSA level (ng/mL) ^{a)}	<10	74 (73.3%)	47.7	53.0	(4.7 - 94.3)	0.3734	3.4	1.8	(0 - 29.4)	0.1608
	≥10	27 (26.7%)	42.5	33.8	(4.1 - 83.1)		6.1	2.4	(0 - 31.2)	
Ki-67 ^{a)}	<10	80 (79.2%)	49.1	53.1	(4.7 - 94.3)	0.0464*	3.4	1.6	(0 - 29.4)	0.1262
	≥10	21 (20.8%)	35.8	33.8	(4.1 - 83.5)		6.8	3.6	(0 - 31.2)	

LI (%), labeling index; pT stage, primary tumor stage; PSA, prostate-specific antigen.
a), Wilcoxon rank sum test ; b), Kruskal-Wallis test. p < 0.05, significant.

NDRG1 の発現は pT ステージ分類において pT2 から pT3 にかけて有意に発現の低下が認められたが(p=0.0102)、その他の臨床病理学的因子との関連性は認められなかった(表 2)。SGK1 はどの臨床病理学的因子とも有意な関連性が認められなかった。

表2 ヒト前立腺癌におけるSGK1およびNDRG1の発現と臨床病理学的パラメータの相関性

Characteristic	n=101	SGK1 score		p-value	NDRG1 score		p-value	
		Low	High		Low	High		
Age	<65 y.o.	51 (50.5%)	38	13	0.4708	12	39	0.0579
	≥65 y.o.	50 (49.5%)	41	9		21	29	
pT stage	pT2	56 (55.4%)	45	11	0.6313	12	44	0.0102*
	pT3	45 (44.6%)	34	11		21	24	
Gleason score	6	22 (21.8%)	19	3	0.6409	7	15	0.9618
	7	42 (41.6%)	32	10		13	29	
	≥8	37 (36.6%)	28	9		13	24	
serum PSA level (ng/mL)	<10	74 (73.3%)	57	17	0.7876	27	47	0.2327
	≥10	27 (26.7%)	22	5		6	21	
Ki-67	<10	80 (79.2%)	63	17	0.7732	25	55	0.6052
	≥10	21 (20.8%)	16	5		8	13	

Fisher's exact test. p < 0.05, significant.

GR と GRβ の発現と SGK1 と NDRG1 の発現の相関性を比較した結果、GR と NDRG1 の発現に有意な相関があり、NDRG1 のスコアが高い方が GR の発現が高いことが認められた(p=0.0176)。その他の相関は確認されなかった(表 3)。

表3 ヒト前立腺癌におけるGR、GRβとSGK1、NDRG1の発現との相関性

	n=101	GR LI (%)			p-value	GRβ LI (%)			p-value
		mean	median	range (min - max)		mean	median	range (min - max)	
SGK1 score									
Low	79 (78.2%)	43.7	40.6	(4.1 - 94.3)	0.0811	4.5	2.2	(0 - 31.2)	0.4230
High	22 (21.8%)	55.8	59.2	(5.6 - 93.3)		2.8	1.5	(0 - 13.6)	
NDRG1 score									
Low	33 (32.7%)	37.1	29.1	(4.7 - 86.6)	0.0176*	3.4	2.6	(0 - 29.4)	0.4921
High	68 (67.3%)	50.8	53.2	(4.1 - 94.3)		4.4	1.8	(0 - 31.2)	

Wilcoxon rank sum test. p < 0.05, significant.

本研究において GR β の発現は非常に低く、GR との相関性も検出されなかったが、GR の機能を阻害するとの報告もある[McBeth L, et al., Int J Endocrinol, 2015]。また、SGK1 は GR の応答遺伝子であり、SGK1 は腫瘍促進遺伝子として知られており、細胞の増殖、分化、アポトーシスに影響を与える NDRG1 などの遺伝子を制御することも知られている[Brunet A, et al., Mol Cell Biol, 2001; Murray JT, et al., Biochem J, 2004]。NDRG1 は正常組織よりも癌組織で発現が低く、上皮間葉転換(EMT)を阻害するとの報告もある[Lim SC, et al., J Biol Chem, 2021]。本研究において、ヒト前立腺癌組織では癌の初期段階で GR、NDRG1 が高発現し癌の進展とともに発現が低下することから、GR および NDRG1 の発現は癌の進展を抑制しており、一方、GR および NDRG1 の発現が低下すると癌の抑制がされず進展する可能性が示唆された。これらの結果から、GR および NDRG1 の発現状況を検討することは、患者の予後予測の可能性に寄与するものと考えられる。しかしながら、GR β 、SGK1 に関しては更なる研究が必要と考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hata S, Shimada H, Sato N, Koshiishi M, Ise K, Ogata T, Yamashita S, Ito A, Sasano H, Nakamura Y.	4. 巻 4
2. 論文標題 Expression and clinicopathological significance of glucocorticoid receptor, SGK1, and NDRG1 in hormone-naive prostate carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 283-291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-022-00332-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 端秀子, 島田洋樹, 佐藤峻, 加藤雅士, 鷹橋浩幸, 中村保宏
2. 発表標題 ホルモン非依存性前立腺癌におけるグルココルチコイド受容体およびその関連因子の発現意義
3. 学会等名 第44回日本内分泌学会東北地方会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 輿石真有, 端秀子, 島田洋樹, 伊勢和恵, 中村保宏
2. 発表標題 ヒト前立腺癌におけるグルココルチコイド受容体および関連因子の発現と臨床病理学的意義
3. 学会等名 第42回日本内分泌学会東北地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 端秀子, 島田洋樹, 伊勢和恵, 笹野公伸, 中村保宏
2. 発表標題 ヒト前立腺癌におけるグルココルチコイド受容体(GR)の発現状況と臨床病理学的意義
3. 学会等名 第25回日本生殖内分泌学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 端秀子, 伊勢和恵, 笹野公伸, 中村保宏
2. 発表標題 ヒト前立腺癌におけるグルココルチコイド受容体(GR)の発現とその意義
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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	中村 保宏 (Nakamura Yasuhiro) (80396499)	東北医科薬科大学・医学部・教授 (31305)	

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
---------	---------