

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591848
 研究課題名（和文） 精囊浸潤前立腺癌の進展メカニズムの解明およびそれを標的にした新規治療の開発
 研究課題名（英文） Development of novel therapies based on the progression mechanism in prostate cancer involving the seminal vesicle
 研究代表者
 三宅 秀明（MIYAKE HIDEAKI）
 神戸大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号：60379435

研究成果の概要：精囊抽出液の添加により前立腺癌細胞の浸潤能の顕著な亢進が認められ、この現象が精囊抽出液中の TGF β による uPA の発現誘導によるものであることを証明した。また、前立腺癌における uPA/uPA receptor system が、根治的前立腺全摘除術施行後の予後に重要な役割を果たすことを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,600,000	0	1,600,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,500,000	570,000	4,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺癌, 精囊, TGF β , uPA, アンチセンス

1. 研究開始当初の背景

欧米諸国の男性においては、前立腺癌の罹患率および死亡率はそれぞれ 1 位および 2 位を占め、近年本邦においても食生活の欧米化等に伴い前立腺癌症例は急激な増加を認めている。また、前立腺特異抗原 (PSA) の導入、更には前立腺癌に対する社会的関心の高まりを反映した PSA 検診の普及等により、早期

の限局性前立腺癌の発見率が徐々に増加し、それに伴う根治的前立腺全摘除術 (RP) の対象症例の増加も著しい。しかし、病理学的限局性癌の予後は良好で RP により満足すべき制癌効果が認められるが、非限局性癌、特に精囊浸潤陽性症例 (pT3b) の予後は極めて不良であり、RP 後の生化学的再発を如何に制御するかが臨床上の大きな問題点の一つとなっている。

2. 研究の目的

研究代表者は前立腺癌の臨床データを詳細に解析してきたが、その過程で前立腺癌精嚢浸潤に関わる以下の疑問を抱くに至った。つまり、精嚢にまで浸潤した前立腺癌の予後が不良であるというよりも、前立腺癌細胞が精嚢に浸潤することによって精嚢の微小環境の影響下で何らかの悪性形質を獲得し、その結果として前立腺癌の悪性度が亢進したため RP による制御を不可能にしている症例が存在するのではないかということである。しかし、前立腺癌に関しては前立腺の微小環境が与える影響を解析した報告は散見されるが、隣接臓器である精嚢の微小環境と前立腺癌進展との関係についての研究は我々が知る限りでは行われていない。精嚢腺液は様々な cytokine および growth factor 等の他、高濃度のフルクトースを含有する等、他の体液とは全く異なる性状であり、これらが精嚢に浸潤した前立腺癌細胞の悪性形質を亢進させている可能性は十分であると予想される。そこで、精嚢浸潤陽性前立腺癌の予後が極めて不良である原因を、精嚢微小環境が前立腺癌細胞に与える影響に注目し、その機序を分子生物学的解析により明らかにし、更にその所見に基づき新たな分子標的治療の開発を行うことが本研究の目的である。

3. 研究の方法

前立腺癌細胞のマウス精嚢への移植：ヒト前立腺癌細胞PC3 をヌードマウスおよびSCIDマウスの精嚢に直接注入し精嚢に腫瘍を形成させ精嚢局所での腫瘍増殖およびリンパ節転移様式を評価した。

精嚢腺液による前立腺癌細胞の形質変化：摘

除したマウス精嚢および前立腺を超音波破砕し、それを培養PC3細胞に添加し、増殖能、運動能および浸潤能に変化に及ぼす影響を、チャンバーを用いたin vitro assay系で検討した。

前立腺癌細胞の悪性形質、特に細胞浸潤能を亢進させる精嚢腺液中の因子の同定：細胞増殖因子およびサイトカインの中から癌細胞の浸潤への関与が報告されているTGF β 、EGF、bFGF、HGF、PDGF、G-CSF、GM-CSF、TNF α 、IL-1 およびIL-6等を培養前立腺癌細胞に添加し、その浸潤能に及ぼす影響を検討した。また、培養前立腺癌細胞の浸潤能を顕著に亢進させる因子を同定し、それらの因子に対する中和抗体を精嚢抽出液に添加することで、精嚢抽出液が前立腺癌細胞に誘導した浸潤能亢進作用の抑制効果が認められるかを検討した。

精嚢腺液が誘導する前立腺癌細胞の悪性形質亢進作用を担うメカニズムの同定：前項で同定された候補因子が、前立腺癌細胞の悪性化を如何なるカスケードを活性化することにより導いているのかを検討した。特に、精嚢腺液の添加によりPC3細胞の浸潤能が亢進することが確認済みであるので、前立腺癌細胞の浸潤および転移に深く関与しているMMP-2、MMP-9、uPAおよびuPA receptor等の分子の発現変化を重点的に解析した。

精嚢腺液中の前立腺癌細胞悪性化亢進因子が活性化する蛋白のRP標本における発現評価：我々は詳細な臨床病理学的データを完備し、免疫染色が可能な約250症例の前立腺全摘標本を有している。これらの臨床標本において、前項で同定した因子が精嚢浸潤を有する症例において、その発現が亢進しているか否かを免疫組織化学染色にて検証する。

精嚢浸潤前立腺癌に対する分子標的治療の確立：前項で同定した因子に対するアンチ

センスオリゴの塩基配列決定, その活性評価およびアンチセンスオリゴを含む多剤併用療法の有用性の検討を順次行う.

4. 研究成果

1. 精嚢抽出液の添加により前立腺癌細胞の増殖および運動能は変化しなかったが, 浸潤能の顕著な亢進が認められた.
2. 種々の細胞増殖因子およびサイトカインの中で, TGF β および EGF が前立腺癌細胞の浸潤能を亢進させたが, TGF β に対する中和抗体のみが精嚢抽出液による浸潤能亢進作用を抑制した.
3. 精嚢抽出液および TGF β は, いずれも濃度依存性に前立腺癌細胞における uPA の発現を誘導し, 精嚢抽出液による uPA 発現誘導は抗 TGF β 抗体により抑制された.
4. 免疫不全マウスの精嚢および前立腺に前立腺癌細胞を移植すると, 精嚢移植群の方が前立腺移植群に比し, 腫瘍増殖およびリンパ節転移ともに高度であった.
5. 前立腺全摘標本における uPA およびその関連分子を含む約 20 種類の分子マーカーの発現レベルを免疫組織化学染色にて評価し, その結果と予後を含む種々の臨床病理学的因子との関連を詳細に解析した. 多変量解析にて, 分子マーカーの中では uPA および uPA receptor の発現レベルが, 前立腺全摘後の生化学的再発の独立した予知因子であることが明らかになった.
6. 前立腺癌の進展, 特に精嚢浸潤を介した進展機序に, 精嚢腺液中の TGF β による uPA システムの活性化が重要な役割を果たしていることが, 基礎的および臨床的解析からも強く示唆されたため, 我々は現在 uPA システムの活性化を阻害するた

めに, その key 遺伝子を標的にしたアンチセンスオリゴを作製し, その有用性を検討中であるが, 幾つかのアンチセンスオリゴが, 精嚢抽出液の添加による前立腺癌細胞の浸潤能の亢進を抑制することを確認した.

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 4 件)

- ① Kumano M, Miyake H, Kurahashi T, Yamanaka K, Fujisawa M.
Enhanced progression of human prostate cancer PC3 cells induced by the microenvironment of the seminal vesicle. British Journal of Cancer, 98: 356-362, 2008, 査読有
- ② Miyake H, Muramaki M, Kurahashi T, Takenaka A, Fujisawa M.
Expression of potential molecular markers in prostate cancer : correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. Urologic Oncology, in press, 査読有
- ③ Kumano M, Miyake H, Muramaki M, Furukawa J, Takenaka A, Fujisawa M.
Expression of urokinase-type plasminogen activator system in prostate cancer: correlation with clinicopathological outcomes in patients undergoing radical prostatectomy. Urologic Oncology, in press, 査読有
- ④ 三宅秀明, 藤澤正人.
oligo DNA, siRNA による治療の展望
Urology View, 6 : 98-104, 2008, 査読無

〔学会発表〕（計 2 件）

①熊野晶文, 三宅秀明, 田中一志, 武中篤,
藤澤正人.

精囊微小環境による前立腺癌悪性形質の亢進

第 17 回泌尿器科分子・細胞研究会, 2008 年 2 月
16 日, 東京

②Kumano M, Miyake H, Takenaka A, Kamidono
S, Fujisawa M.

Enhanced progression of human prostate cancer
PC3 cells by the microenvironment of the
seminal vesicle

American Urological Association Annual Meeting,
2008 年 5 月 20 日, Orlando, USA

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三宅 秀明 (MIYAKE HIDEAKI)

神戸大学医学部附属病院・講師

研究者番号 : 60379435

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし