

平成 22 年 4 月 21 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
研究期間：2007～2010
課題番号：19591849
研究課題名 (和文) アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株への IL6 遺伝子導入による細胞形質の変化
研究課題名 (英文) Biological change of androgen dependent prostate cancer cell line by interleukin 6 gene transduction
研究代表者
原 勲 (HARA ISAO)
和歌山県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：10263378

研究代表者の専門分野：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、ホルモン依存性、IL6、遺伝子導入

1. 研究計画の概要

内分泌療法は前立腺癌に対する有効な治療法の一つであるが、致命的な欠点として治療中に前立腺癌が本療法に対する抵抗性を獲得することが挙げられる。内分泌療法抵抗性前立腺癌 (以下 HRPC と略す) の耐性のメカニズムに関しては多くの研究が展開されてきたが詳細なメカニズムは未だ明らかにされていない。一つの機序として B リンパ球の増殖を促進するサイトカインである IL6 が autocrine fashion で前立腺癌細胞の増殖を促し HRPC の発症に関与する可能性が示唆されている。本研究においては内分泌感受性前立腺癌細胞株に IL6 の遺伝子を導入、発現させることにより内分泌依存性に変化が生じるか否かを明らかにしようとするものである。

2. 研究の進捗状況

IL6 の遺伝子を RT-PCR 法を用いヒトリンパ球 RNA から単離した。ほ乳類発現ベクター (プラスミド) へ遺伝子を組み込んだ後、COS7 細胞を用いて一時的な遺伝子導入を行い培養上清中への IL6 の分泌を確認した。この発現ベクターをヒト前立腺癌細胞株である LNCaP に遺伝子導入した。薬剤による選択を行い、IL6 を分泌するクローンを得た。IL6 の分泌は培養上清中の IL6 の濃度を ELISA 法にて測定した。遺伝子を導入する以前の LNCaP と LNCaP/IL-6、LNCaP/moc との間に増殖能の違いがあるか否かを in vitro proliferation assay において検討した。In vitro proliferation についてはトリパンブルーを用いた生細胞測定を連日 triplicate にて行い増殖曲線を作成した。同時に ELISA 法にて測定した IL-6 遺伝子導入株培養上清液中の濃度に匹敵する濃度の IL-6 を、外因性に母細胞である LNCaP の培養液に加

えた実験も同時に行ったが、in vitro での増殖に関しては LNCaP と LNCaP/IL-6、LNCaP/moc との間で差を認めなかった。また外因性に IL6 を加えた場合においても有意な差は認められなかった。

同腫瘍を nude mouse に移植したところ母細胞の MBT2 と比較して腫瘍増殖能の亢進を認めた。今後、この増殖機能亢進のメカニズムに関し実験を進める予定である。

3. 現在までの達成度

③やや遅れている。
IL6 発現株を得るところまでは順調に進み、in vivo での preliminary な結果を得るところまでは達成できたが、今後メカニズムに関する解析が必要となる。

4. 今後の研究の推進方策

今後は in vivo での実験のみならず、シグナル伝達等と含めた in vitro での解析に関しても進めていくつもりである。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)
現段階ではいまだ preliminary な data であり、発表までには至っていない。