

令和 5 年 6 月 23 日現在

機関番号：32643

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09699

研究課題名（和文）ビタミンD3が前立腺癌抗増殖作用を規定するエピゲノム修飾を伴う転写制御機構の解明

研究課題名（英文）Transcriptional regulatory mechanisms involving epigenomic modifications that define the antiproliferative effects of Vitamin D3 on prostate cancer.

研究代表者

諏佐 崇生（SUSA, TAKAO）

帝京大学・医学部・講師

研究者番号：20445852

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究から、転写調節因子HOXC9の発現制御機構がアンドロゲンによるヒト前立腺癌LNCaP細胞の増殖、及び、ビタミンD3による抗増殖作用の一端を担うことが明らかとなった。HOXC9は、アンドロゲン依存的にDNAメチル化を介して転写抑制された。HOXC9安定発現細胞の解析の結果、HOXC9はアンドロゲンで活性化したARに相互作用し、ARの標的DNA配列結合を阻害した。即ち、前立腺癌では、HOXC9を抑制することで、アンドロゲン依存的に増殖できる細胞内環境を維持していると考えられ、一方ビタミンD3は、HOXC9を誘導してアンドロゲン活性を阻害し、前立腺癌への抗増殖作用に寄与していると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

厚生労働省による令和2年の人口動態統計調査では、前立腺がんの死亡者数は12759人であり、これはがん全体の第6位にあたる。高齢化社会が進む近年、加齢に伴って罹患率が上昇する前立腺がんの患者数は増加の一途を辿っている。前立腺がんの治療には抗アンドロゲン薬など複数の薬が開発されているが、それらに抵抗性を示す抵抗性がんの出現が問題となっており、さらなる前立腺がんの新規治療戦略の開発が求められているのが現状と言える。その点、本研究で得られた研究成果は、既存の治療薬とは異なるメカニズムでARを阻害するものであり、新規治療戦略の候補と言えるものであり、本研究には学術的・社会的意義があるものと言える。

研究成果の概要（英文）：The current investigation revealed the regulatory mechanism governing the expression of the transcriptional factor HOXC9, elucidating its involvement in the androgen-induced proliferation of human prostate cancer LNCaP cells, as well as its contribution to the anti-proliferative effect of Vitamin D3. HOXC9 was found to undergo transcriptional repression through DNA methylation in an androgen-dependent manner. Multiple analyses conducted using HOXC9 stable LNCaP cells, which maintained HOXC9 expression under androgen administration, demonstrated the interaction between HOXC9 and androgen-activated AR transcriptional complexes, leading to the inhibition of AR binding to its target DNA sequences. In essence, the down regulation of HOXC9 in prostate cancer is believed to maintain an intracellular environment conducive to androgen-dependent proliferation, while vitamin D3 induces HOXC9 expression to inhibit androgen activity, contributing to its anti-proliferative effect on prostate cancer.

研究分野：内分泌学

キーワード：前立腺がん ビタミンD アンドロゲン

1. 研究開始当初の背景

背景 前立腺癌とビタミンD3の癌抑制作用

男性特異的な癌である前立腺癌は、アンドロゲン依存性にARを介した転写制御により増殖する。そのため、種々のアンドロゲンのアンタゴニストを用いたARの不活化が治療方針の柱として選択されている。一方、その長期使用は癌をホルモン抵抗性 (CRPC)へと進展させる(Attard et al. *Cancer Cell*. 2009, 16:458)。そこで、これらに追加して新たな治療戦略の開発が求められている。一方、近年、他種の核内受容体によるAR制御機構へのクロストークを介した癌細胞増殖抑制作用に注目が集まっており、その中でもビタミンD3が持つ前立腺癌への抗増殖作用の有効利用に興味を持たれている。

背景 がん細胞でエピゲノム異常で抑制されるクラスター遺伝子群の存在

がんでは、DNAのメチル化やヒストン修飾といったエピゲノムの異常が頻発することが広く知られている(Jones et al., *Cell*. 2007, 128:683.)。例えば、肺癌や乳癌ではHOXA遺伝子クラスター領域が高メチル化されていることが報告されている(*Cancer Res*. 2006, 66:10664. *PNAS*. 2007, 104:5527.)。このように種々の癌で固有のメチル化パターンを形成することが予想され、本研究課題である前立腺癌においても、細胞周期、DNA修復、アポトーシス、癌転移関連遺伝子などがメチル化制御されることが報告されている(*Cancer Control*. 2010, 17:245.)。それらのメチル化の発生機序や、その制御遺伝子の発現変動が前立腺癌の増殖にどのように寄与するのかを解明することが急務である。

2. 研究の目的

前立腺がんはDHTなどのアンドロゲンにより、細胞増殖は強く促進され、さらにビタミンD3は増殖抑制作用を示すことが知られている。このことから、ビタミンD3の抗増殖作用を規定する因子の探索から、前立腺がん治療の新規標的因子の同定が期待できる。また、このようなステロイドホルモンが前立腺癌の特定の遺伝子座の高メチル化を制御することは未だ報告されていない。一方、申請者は先行研究において、クラスターを形成するHOXC_s遺伝子座の遺伝子群を、アンドロゲンは包括的に転写抑制し、また逆にビタミンD3はこれら遺伝子群を転写促進することを見出していた。これらのことから、ホルモンに応答したARやVDRが引き起こすこれらの転写調節にもDNAのメチル化の関与が予想され、さらにホルモン依存的な増殖調節までも影響するのかもしれない。従って、本研究はHOXC遺伝子群に対する、DHT-ARとD3-VDRのクロストークを介したステロイドホルモン依存的なエピゲノム制御機構の解明を行い、またこの制御機構が前立腺がんの増殖、抗増殖にどのように寄与するのかを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト前立腺がん培養細胞のLNCaP細胞にホルモン処理等を行い、遺伝子発現解析、タン

パク質解析、クロマチン免疫沈降、免疫沈降、ルシフェラーゼアッセイなどの解析により、HOXC9遺伝子群の転写制御機構の解析を行った。

4．研究成果

本研究成果は、主に次の3点からなる。

HOXC9遺伝子発現制御機構の解析

DNAのメチル化を介したHOXC9遺伝子の転写機構の解析

HOXC9によるARの転写抑制作用の解析

詳細は、原著論文の発表後に公表する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Akimoto M, Susa T, Okudaira N, Koshikawa N, Hisaki H, Iizuka M, Okinaga H, Takenaga K, Okazaki T, Tamamori-Adachi M	4. 巻 120
2. 論文標題 Hypoxia induces downregulation of the tumor-suppressive sST2 in colorectal cancer cells via the HIF-nuclear IL-33-GATA3 pathway.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci U S A	6. 最初と最後の頁 e2218033120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2218033120.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akimoto M, Susa T, Okudaira N, Hisaki H, Iizuka M, Okinaga H, Okazaki T, Tamamori-Adachi M.	4. 巻 298
2. 論文標題 A novel lncRNA PTH-AS upregulates interferon-related DNA damage resistance signature genes and promotes metastasis in human breast cancer xenografts.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 102065
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jbc.2022.102065.	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 -

1. 著者名 Kikuyama T, Susa T, Tamamori-Adachi M, Iizuka M, Akimoto M, Okinaga H, Fujigaki Y, Uchida S, Shibata S, Okazaki T	4. 巻 199
2. 論文標題 25(OH)D 3 Stimulates the Expression of Vitamin D Target Genes in Renal Tubular Cells When Cyp27b1 Is Abrogated	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Steroid Biochem Mol Biol .	6. 最初と最後の頁 105593
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jsbmb.2020.105593	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12件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 諏佐 崇生、坪井 栄希、秋元 美穂、奥平 准之、飯塚 眞由、岡崎 具樹、安達 三美
2. 発表標題 アンドロゲン受容体およびスプライシングバリエントに対するH0XC9阻害作用の解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 坪井 栄希、諏佐 崇生、秋元 美穂、奥平 准之、飯塚 眞由、岡崎 具樹、安達 三美
2. 発表標題 アンドロゲン受容体スプライシングバリエントに対するHOXC9阻害作用の解析
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諏佐 崇生、秋元 美穂、奥平 准之、飯塚 眞由、岡崎 具樹、安達 三美
2. 発表標題 ヒト前立腺癌細胞にてDHTで抑制されるHOXC9はARの阻害因子として機能する
3. 学会等名 第94回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 諏佐崇生
2. 発表標題 前立腺癌におけるアンドロゲンとビタミンDシグナリングによる拮抗作用
3. 学会等名 第94回日本生化学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 諏佐崇生、大野くるみ、秋元美穂、奥平准之、飯塚眞由、渡部多真紀、安野伸浩、岡崎具樹、安達（玉盛）三美
2. 発表標題 ヒト前立腺癌細胞にてHOXC9はARの阻害因子として機能する
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安達（玉盛）三美、諏佐崇生、久樹晴美、秋元美穂、飯塚眞由、岡崎具樹
2. 発表標題 加齢による糖質コルチコイド分泌攪乱のメカニズムの解析
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥平准之、諏佐崇生、秋元美穂、久樹晴美、西森茂樹、飯塚眞由、岡崎具樹、安達（玉盛）三美
2. 発表標題 The change of steroidogenesis with aging in mouse adrenal gland
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 諏佐崇生、小高尚貴、飯塚眞由、安達（玉盛）三美、渡部多真紀、渡辺茂和、岡崎具樹
2. 発表標題 HOXC遺伝子を軸としたビタミンD3によるヒト前立腺癌の抗増殖作用の分子機序
3. 学会等名 第93回 日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 諏佐崇生、小高尚貴、飯塚眞由、安達（玉盛）三美、渡部多真紀、渡辺茂和、岡崎具樹
2. 発表標題 HOXC遺伝子を軸としたビタミンD3によるヒト前立腺癌の抗増殖作用の分子機序
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋元美穂、諏佐崇生、安達（玉盛）三美、飯塚真由、岡崎具樹
2. 発表標題 異所性副甲状腺ホルモン産生悪性線維性組織球腫で検出された新規lncRNAの解析
3. 学会等名 第43回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 諏佐崇生、菊山崇浩、安達（玉盛）三美、秋元美穂、飯塚真由、内田俊也、柴田茂、岡崎具樹
2. 発表標題 25(OH)D3は腎細胞においてビタミンD3活性を発揮する
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

1. 発表者名 諏佐崇生、小高尚貴、飯塚真由、安達（玉盛）三美、渡部多真紀、渡辺茂和、岡崎具樹
2. 発表標題 ヒト前立腺癌LNCaP細胞におけるDHTとビタミンD3によるHOXC遺伝子群の拮抗的な転写制御機構
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

researchmap-諏佐崇生 https://researchmap.jp/tsusatsusa HP：帝京大学医学部生化学講座 http://www.teikyo.jp/teikyo-med_biochem/

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

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