

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18590

研究課題名（和文）SGLT2糖輸送経路に着目したAR抑制による前立腺癌増殖抑制機構の解明

研究課題名（英文）Mechanism of Prostate Cancer Growth Inhibition by AR Suppression Focusing on the SGLT2 Glucose Transport Pathway

研究代表者

星 誠二（hoshi, sei-ji）

福島県立医科大学・医学部・病院助手

研究者番号：70813137

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：前立腺癌において、一般的に癌で糖取り込みを担うグルコーストランスポーターは低発現とされる。そのため本研究では異なる経路のナトリウム依存性グルコーストランスポーター-2（SGLT2）に着目し、アンドロゲン受容体活性の抑制による細胞増殖抑制効果との関連を解明し、SGLT2の診断マーカーや治療ターゲットとしての可能性を探索した。本研究では、前立腺癌の増殖に重要とされるアンドロゲン受容体によるSGLT2の制御と細胞増殖への関連を評価した。SGLT2の発現は、アンドロゲン非依存性の前立腺癌細胞株で発現が高く、アンドロゲン非依存的な制御が主であると考えられたが、SGLT2の抑制は細胞増殖を抑制し得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌において、アンドロゲン受容体の遮断は細胞増殖を抑制し、主に使用される治療薬の標的とされる。しかし治療過程で、アンドロゲン受容体の発現低下と代替経路の発現亢進により、薬剤耐性を獲得する症例が存在する。今回、SGLT2はアンドロゲン受容体の発現低下に伴い発現が亢進する可能性があり、今後アンドロゲン受容体遮断薬の治療予測因子や治療不応症例において新たな治療標的になる可能性が示唆された。SGLT2阻害薬は糖尿病の治療薬として、大きな有害事象なく投与できる薬剤であるため、臨床での使用が期待される。

研究成果の概要（英文）：In prostate cancer, glucose transporters responsible for sugar uptake in cancer are generally considered to be under-expressed. Therefore, in this study, we focused on sodium-glucose transporter 2 (SGLT2), which has a different pathway, to elucidate the relationship between SGLT2 and suppression of cell growth by suppressing androgen receptor activity, and to explore its potential as a diagnostic marker and therapeutic target. The objective of this study was to explore the potential of SGLT2 as a diagnostic marker and therapeutic target. In this study, we evaluated the relationship between the regulation of SGLT2 by the androgen receptor, which is considered important for prostate cancer growth, and cell proliferation; SGLT2 expression was higher in androgen-independent prostate cancer cell lines, suggesting that androgen-independent regulation is the predominant mechanism, but SGLT2 suppression could inhibit cell proliferation.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 糖代謝 SGLT2 アンドロゲン受容体

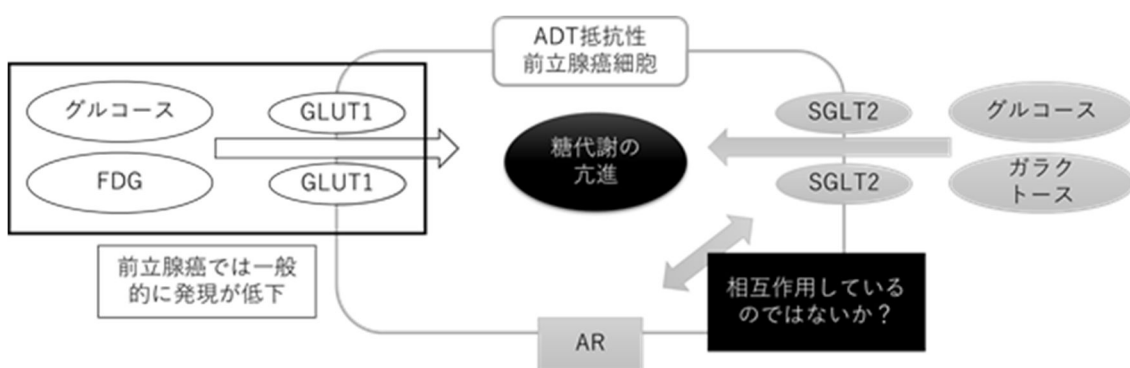
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌の治療にはアンドロゲン遮断療法 (Androgen deprivation therapy; ADT) が有効であるが、アンドロゲン受容体活性の抑制による腫瘍増殖抑制メカニズムの詳細は未解明である。我々は進行前立腺癌治療に対する ADT の効果を予測する遺伝子セットを同定した (特願 2021-154185)。その中で糖代謝に関する遺伝子の発現に差を認めたことから、アンドロゲン受容体活性の抑制による細胞増殖抑制効果と前立腺癌の糖代謝には関連があるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

一方前立腺癌において、一般的に糖取り込みを担うグルコーストランスポーターは低発現とされている。そこで今回異なる経路のナトリウム依存性グルコーストランスポーター2 (sodium-glucose transporter 2; SGLT2) に着目し、アンドロゲン受容体活性の抑制による細胞増殖抑制効果との関連を解明し、SGLT2 の診断マーカーや治療ターゲットとしての可能性を探求することを本研究の目的とした。



3. 研究の方法

本研究では、ヒト mHSPC 前立腺癌細胞株 (LNCaP, 22RV-1) およびヒトホルモン抵抗性前立腺癌 (hormone refractory prostate cancer; HRPC) 細胞株 (PC3, Du145) を用いて、SGLT2 の発現評価を行い、SGLT2 阻害・過剰発現による細胞増殖の変化およびアンドロゲン受容体活性の変化の評価を行う。また mHSPC 細胞株に対しアンドロゲン受容体阻害薬である Bicalutamide (BCL) を使用した際の SGLT2 の発現変化および腫瘍の糖代謝について評価する。加えて SGLT2 阻害・過剰発現下での BCL の効果について評価をおこなうことで、SGLT2 がアンドロゲン遮断療法に与える影響について検討する。

< 本研究の方法 >

研究 : mHSPC 前立腺癌細胞株 (LNCaP, 22RV-1) および mHRPC 前立腺癌細胞株 (PC3, Du145) での SGLT2 発現解析および SGLT2 を介した糖取り込みの評価

1. 各細胞において、免疫染色、RT-PCR、Western Blotting (WB) を用い SGLT2 の発現評価を行う。

2. SGLT2 の基質である α -メチル-D-グルコピラノシド (AMG) を ^{14}C で標識し、各細胞について、SGLT2 を介した [^{14}C] AMG の取り込み評価を行う。また細胞外の糖環境 (SGLT2 の基質であるグルコースの濃度) の変化による細胞増殖能の変化についても評価を行う。

研究 : 選択的 SGLT2 阻害薬 (Canagliflozin, Dapagliflozin, Ipragliflozin, Empagliflozin) による細胞発育阻害の評価およびアンドロゲン受容体活性の評価

1. アンドロゲン受容体 (AR) 発現細胞株 LNCaP, 22RV-1 に選択的 SGLT2 阻害薬 4 剤をそれぞれ投与し、細胞発育阻害の程度をコロニー形成アッセイおよび WST アッセイで評価する。

2. 細胞発育阻害効果が最も強い薬剤 (薬剤 A) と弱い薬剤 (薬剤 B) の 2 剤を用いて、AR の発現解析を行う。AR の発現については、RT-PCR、WB、ルシフェラーゼアッセイで行う。また細胞上清において、PSA を ELISA にて測定する。

3. 薬剤 A, B の投与が AR のいくつかの遺伝子の既知のアンドロゲン応答配列への結合に影響を与えるかについて、クロマチン免疫沈降アッセイにて評価を行う。

4. また、薬剤 A, B 投与下において研究 - 2 と同様の評価を行う。

研究 : SGLT2 の強制発現およびノックダウンによる LNCaP, 22RV-1 細胞の細胞増殖とアンドロゲン受容体活性の評価と選択的 SGLT2 阻害薬によるアンドロゲン受容体阻害薬 (BCL) の発育阻害効

果・アンドロゲン受容体活性への影響の評価

1. SGLT2 の overexpression プラスミドのトランスフェクションにより、LNCaP, 22RV-1 細胞において SGLT2 の強制発現を行う。また LNCaP, 22RV-1 細胞において siRNA による SGLT2 のノックダウンを行い、両細胞において、研究 と同様の評価を行う。

2. それぞれの細胞に対し、コントロール試薬、BCL、薬剤 A、BCL+薬剤 A の薬剤を投与し、細胞発育阻害効果およびアンドロゲン受容体活性の変化を研究 と同様に評価する。

研究 : LNCaP 細胞を用いた担癌モデルマウスにおける、選択的 SGLT2 阻害薬の抗腫瘍評価および ADT への上乗せ効果の検証

1. LNCaP 細胞を雄性ヌードマウスの皮下に移植し、担癌マウスを作成する。作成した担癌マウスについては、すべての群で去勢処置を行う。

2. 担癌マウスを コントロール 薬剤 A 投与群 BCL 投与群 薬剤 A+BCL 投与群に分け、腫瘍径、血清の PSA を測定する。

4. 研究成果

研究 : mHSPC 前立腺癌細胞株 (LNCaP, 22RV-1) および mHRPC 前立腺癌細胞株 (PC3, Du145) での SGLT2 発現解析および SGLT2 を介した糖取り込みの評価

各細胞において、SGLT2 の発現を評価したが、mRNA 及びタンパクレベルにおいて、mHSPC 細胞に比較し mHRPC 細胞で SGLT2 の発現が優位に高かった。また、SGLT2 の基質の取り込みは、SGLT2 の発現量に依存した。

研究 : 選択的 SGLT2 阻害薬 (Canagliflozin, Dapagliflozin, Ipragliflozin, Empagliflozin) による細胞発育阻害の評価およびアンドロゲン受容体活性の評価

それぞれの薬剤において、4 種の細胞の細胞増殖は抑制されたが、その細胞増殖抑制効果は mHRPC 細胞で SGLT2 の発現が優位に高かった。AR の発現については、mHSPC 細胞で評価を行ったが、発現変化は認めなかった。そのため、ルシフェラーゼアッセイや免疫沈降は省略した。上清中の PSA は低下したが、細胞数で補正すると有意な低下は認めなかった。

研究 : SGLT2 の強制発現およびノックダウンによる LNCaP, 22RV-1 細胞の細胞増殖とアンドロゲン受容体活性の評価と選択的 SGLT2 阻害薬によるアンドロゲン受容体阻害薬 (BCL) の発育阻害効果・アンドロゲン受容体活性への影響の評価

mHSPC における SGLT2 の overexpression プラスミドのトランスフェクションにより、細胞増殖能は亢進した。AR の発現は大きな変化を認めなかった。SGLT2 のノックダウンにより、mHRPC 細胞で細胞増殖は抑制されたが、AR の発現は変化を認めなかった。また各薬剤でも AR の発現に変化は認めなかった。

研究 : LNCaP 細胞を用いた担癌モデルマウスにおける、選択的 SGLT2 阻害薬の抗腫瘍評価および ADT への上乗せ効果の検証

LNCaP 細胞による実験では、有効な上乗せ効果が検証できなかったため、今後他種細胞及び薬剤を変更して実験を継続中である。

5. 主な発表論文等

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

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Hoshi Seiji, Meguro Satoru, Imai Hitomi, Matsuoka Yuta, Yoshida Yuki, Onagi Akihumi, Tanji Ryo, Honda Takinami Ruriko, Matsuoka Kanako, Koguchi Tomoyuki, Hata Junya, Sato Yuichi, Akaihata Hidenori, Kataoka Masao, Ogawa Soichiro, Kojima Yoshiyuki | 4. 巻 112 |
| 2. 論文標題 Upregulation of glucocorticoid receptor mediated glucose transporter 4 in enzalutamide resistant prostate cancer | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 1899 ~ 1910 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14865 | 査読の有無 無 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計0件

〔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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|