

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K18600

研究課題名（和文）PDCD4に着目した去勢抵抗性前立腺癌の新規マーカー・治療の確立に関する研究

研究課題名（英文）Establishment of novel marker and therapy by targeting PDCD4 for castration resistant prostate cancer

研究代表者

全並 賢二（Zennami, Kenji）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：60440731

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、癌抑制遺伝子であるProgrammed cell death 4 (PDCD4) に着目し、去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)の機序の解明、miR-21/PDCD4経路をターゲットとしたCRPCの新規治療法の開発を目的とした。

前立腺癌標本では病理学的悪性度とPDCD4蛋白発現は逆相関していた。PDCD4を介して蛋白翻訳に関わるeIF4aを阻害するSilvestrolによりヒト前立腺癌細胞の増殖抑制効果を認めた。

一般的にPDCD4が低発現している去勢抵抗性前立腺癌において、蛋白翻訳をターゲットとしたsilvestrolの抗腫瘍効果が示唆され、今後の臨床応用の可能性も期待できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では前立腺組織あるいは前立腺癌組織内でのPDCD4発現レベルや分布を明らかにし、PDCD4経路をターゲットとした新規治療開発の重要性を見出した。

また、PDCD4は蛋白翻訳に重要な役割を持つeIF4aに対するinhibitorとしての機能が報告されているが、同様の機能を持つ薬剤(Silvestrol)は、PDCD4発現が低下した去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)に対する抗腫瘍効果を認め、新規治療法となりうる可能性が示唆された。

これらの知見により、PDCD4経路は治療困難なCRPCの新規マーカー、治療となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In the current study, we aimed to clarify the mechanism of castration resistant prostate cancer (CRPC), and to establish a novel therapy targeting miR-21/PDCD4 pathway. Immunohistochemical evaluation using human prostate cancer specimens, Gleason score (GS) was inversely associate with PDCD4 expression. Androgen deprivation therapy elevated PDCD4 expression in high GS cases. Silvestrol, which is an inhibitor of translation associated protein, eIF4a showed antitumor effect in both LNCaP-sh-control and LNCaP-sh-PDCD4. Silvestrol showed significantly higher antitumor effect in sh-PDCD4 than that of sh-control. These results suggest that silvestrol might be a novel drug for CRPC in the future.

研究分野：Urologic oncology

キーワード：Prostate cancer translation PDCD4 eIF4a

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アンドロゲン除去療法(androgen deprivation therapy:ADT)は、進行性前立腺癌において標準的に行われている治療であるが、一部の症例においてホルモン不応性となる去勢抵抗性前立腺癌(castration resistant prostate cancer:CRPC)が治療上の問題となっている。しかし、CRPCの詳細な機序は未だ明らかになっておらず、有効な治療法も確立されていない。それに対し、申請者らはアンドロゲン受容体(androgen receptor:AR)によって調節される癌マイクロRNA(miRNA)である miR-21 とその標的遺伝子について研究を進めてきた。申請者らは miR-21 が前立腺癌細胞内でアンドロゲンによって調節され、過発現させた miR-21 がホルモン依存性、または去勢抵抗性の増殖をもたらすことを報告した(Ribas et al:Cancer Research 2009)。多数報告されている miR-21 の標的遺伝子のうち、独自に行ったスクリーニングの結果から、癌抑制遺伝子の1つである PDCD4 に着目し、PDCD4 がアンドロゲンによって miR-21 を介して調節され、前立腺癌発生、増殖、去勢抵抗性に関連していることを報告した(Zennami et al: Molecular Cancer Research, in press)。PDCD4 の重要な機能は、eukaryotic translation initiation factor A (eIF4A)と結合することにより、キャップ依存的な翻訳を阻害することであり、特定の mRNA の翻訳を阻害する。PDCD4 蛋白は、核移行シグナルを持っており、核、細胞質双方に存在しているが、核内での機能についてはほとんど明らかにされていない。また PDCD4 は様々な癌において発現低下しており、発生、増殖、転移、アポトーシスなどと関連していると報告されているが、前立腺癌での報告はほとんどなく、特に臨床検体を用いたデータは皆無である。

2. 研究の目的

本研究では、研究課題の核心をなす学術的な「問い」として、「PDCD4 は CRPC の予後予測マーカー、治療ターゲットとなりうるのか」を設定した。臨床検体を用いて前立腺における PDCD4 発現を解析し、臨床データを比較することによって、PDCD4 を病理学的悪性度や予後予測マーカーとして確立し、さらにその先には PDCD4 をターゲットとした新規治療法を開発することを目的としている。

3. 研究の方法

前立腺全摘標本における PDCD4 発現の検討

対象：当施設において前立腺癌と診断され、前立腺全摘除術を施行した症例

目的：病理学的悪性度の新規予測マーカーの確立

方法：前立腺組織包埋切片に対して免疫染色を行う。前立腺正常組織、または前立腺癌細胞における PDCD4 の発現強度、分布について確認する。その後、病理学的悪性度(Gleason score)との関連について検討を行う。

eIF4A inhibitor(Silvestrol)の前立腺癌細胞に対する抗腫瘍効果の検討

目的：eIF4A inhibitor を使用した CRPC に対する新規治療法の開発

1. 去勢抵抗性前立腺癌細胞株(PC-3、DU145、shPDCD4-LNCaP)の eIF4A 関連蛋白発現の解析
上記細胞株を使用して、eIF4A 関連蛋白(c-Myc, cyclins, PARP 等)の発現レベル、Silvestrol 治療によるそれらの変化を western blotting にて確認する。

2. 上記細胞株に対する増殖抑制効果の確認

Silvestrol の前立腺癌細胞株に対する増殖抑制効果を WST-1 assay にて確認する。

4. 研究成果

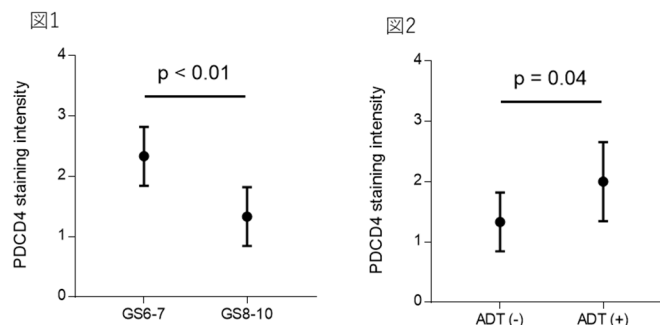
・免疫組織学的染色において、Gleason score が増えるごとに PDCD4 蛋白発現は低下する傾向にあった(図 1)。

・また、GS8 以上の症例のうち、術前ホルモン療法(ADT)を施行された症例においては高 GS にも関わらず PDCD4 が高い傾向にあった(図 2)。

・PDCD4 を安定的にノックアウトする LNCaP-sh-PDCD4 を作成した。

・LNCaP-sh-PDCD4 は sh-control と比較して細胞増殖速度が有意に早かった(図 3)。

・LNCaP-sh-PDCD4 はチャコールストリップ処理した条件での MTT アッセイにおいても sh-



control と比較して有意に増殖スピードが速く、去勢抵抗性を示した(図3)。

・ Silvestrol(1nM) は LNCaP-sh-control において有意に増殖を抑制した。さらに、sh-PDCD4 においてより強い細胞増殖抑制効果を認めた。

図3

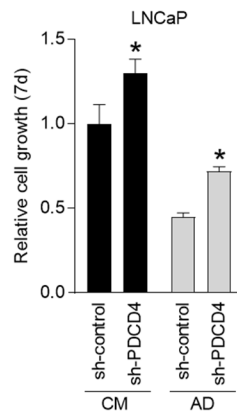
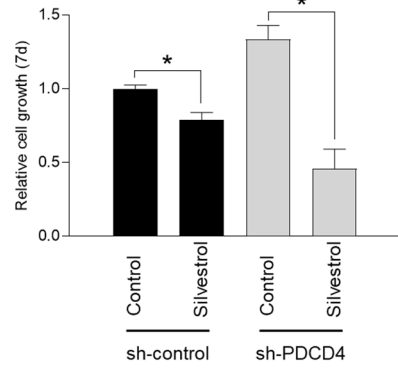


図4



【結論】PDCD4 は Gleason score と逆相関し、アンドロゲン除去療法は低下した PDCD4 発現を上昇させる効果が示唆された。PDCD4 をノックアウトした細胞株において Silvestrol による細胞増殖抑制効果は通常の細胞株と比較して有意であったことから、Silvestrol は translation をターゲットした去勢抵抗性前立腺癌の新規治療になる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------