

平成22年4月20日現在

研究種目：若手研究（B）
研究期間：2008～2009
課題番号：20791101
研究課題名（和文） 前立腺癌、腎癌におけるアポトーシス抑制因子サバイビンに関する分子標的治療の研究
研究課題名（英文） A study of the molecule target treatment about survivin, an apoptosis inhibitor, in the prostate and renal cancer.
研究代表者
小池 秀和（KOIKE HIDEKAZU）
群馬大学・医学部・助教
研究者番号：90420091

研究成果の概要（和文）：

まず、前立腺癌及び腎癌におけるアポトーシス抑制因子であるsurvivinの発現を調べ、survivinの抑制による抗腫瘍効果つき検討した。前立腺生検組織におけるsurvivin mRNA発現は、前立腺肥大症に比し、前立腺癌で、さらに高悪性度の癌で有意に過剰発現していた。一方、臨床腎癌摘出組織においては遠隔転移症例で有意に過剰発現していた。前立腺癌細胞および腎癌細胞において、survivin 遺伝子に対するsiRNA 導入により細胞増殖が有意に抑制された。

また、前立腺癌においては活性型ビタミンDである $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とsurvivin抑制による抗腫瘍増感効果につき検討した。ホルモン依存性前立腺癌細胞LNCaPにおいては $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 単独で細胞増殖が抑制された。一方、ホルモン非依存性前立腺癌細胞DU145においては $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 単独では細胞増殖抑制をきたさなかったものの、siRNAによるsurvivin mRNAの発現抑制下では、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によりDU145細胞増殖が抑制された。

これらの結果は、survivinが前立腺癌および腎癌の増殖に関連していること、またホルモン非依存性前立腺癌に対する $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 治療にsurvivinの抑制が有効である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We assessed the effect of survivin gene expression on the proliferation of prostate cancer (Pca) cells, and studied the association of survivin gene expression levels with the pathological grade of Pca. In Pca cells, decrease of survivin gene expression by transfection of siRNA was accompanied by inhibition of cell proliferation of Pca cells. In prostate biopsy samples, survivin expression level of Pca was significantly higher than that of BPH or Pca after androgen deprivation therapy, and was associated significantly with high-grade cancer.

Next, we assessed the effect of survivin gene expression on the proliferation of renal cancer (RCC) cells, and studied the association of survivin gene expression levels with the clinical stage of RCC. In Caki-1 cells, decrease of Survivin gene expression by transfection of siRNA was accompanied by inhibition of the proliferation. In clinical RCC tissues, survivin expression levels in metastatic stage were significantly higher.

$1\alpha, 25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ (1,25D) inhibits the proliferation of prostate cancer cells. We examined the antitumor sensitization effect due to survivin inhibition in 1,25D treatment for prostate cancer cells. In LNCaP cells, 1,25D decreased survivin gene expression and inhibited cell proliferation. On the other hand, survivin gene expression and cell proliferation in DU145 cells were not inhibited. However, interestingly, after the transfection of siRNA against survivin, DU145 cell proliferation was inhibited by 1,25D.

These findings suggest that survivin has a significant association with prostate and renal cancer cell proliferation and plays an essential role in 1,25D-induced cell growth inhibition in prostate cancer. It seems that the elimination of survivin in the therapy against prostate and renal cancer is a potential therapeutic option.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：泌尿器科学、分子生物学
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、腎癌、サバイビン

1. 研究開始当初の背景

泌尿器科疾患において前立腺癌をはじめとした悪性腫瘍の頻度は増加しており、その新しい治療法の確立は急務である。そのためには、腫瘍の増殖メカニズムの解明が基礎研究の点からは必須である。近年、「分子標的」の概念が確立され、そのメカニズムに直接働く分子から新しい薬剤の開発も可能となった。われわれは、腫瘍細胞で発現しているアポトーシス抑制タンパクの一つである Survivin (サバイビン) にターゲットを絞り、前立腺癌および腎癌における Survivin の役割とくに、細胞増殖における効果と、Survivin の抑制による抗腫瘍効果のメカニズムを検討してきた。siRNA 導入による Survivin の抑制により細胞増殖が抑制されることを確認した。また、Survivin と臨床の前立腺癌、腎癌の組織異型度、病期との関連を検討し、前立腺癌においては Gleason score (組織異型度) 間に、腎癌においては遠隔転移の有無に関連性を見出した。

2. 研究の目的

今回は腫瘍モデルを用いた in vivo での実験にて、siRNA 導入による Survivin の抑制による抗腫瘍効果を見るための条件設定、実験を進め、実際の臨床に還元可能な内容をめざす。また、先に同定した Survivin のスプライスバリエントのうち、2 α 、2B に着目し、臨床との関連の検討を進める。さらに Survivin に影響をおよぼすことが期待される薬剤での検討も行って臨床での治療への直結を目指す。

3. 研究の方法

- (1) 前立腺生検組織における Survivin および splice variant の遺伝子発現量の検討
- (2) 腎癌組織での Survivin および splice variant の遺伝子発現量の検討
- (3) ビタミンD 添加後の前立腺癌細胞での survivin 遺伝子発現の変化と survivin 抑制

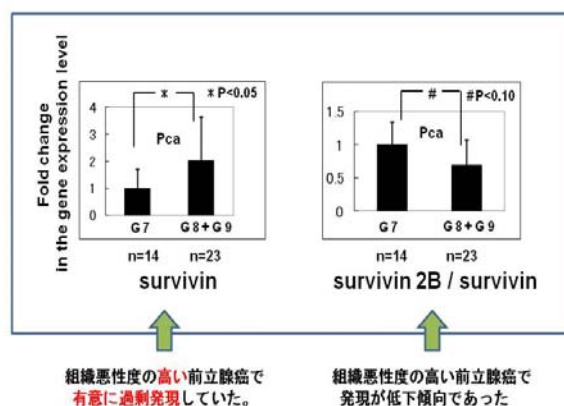
の効果

(4)ヌードマウス皮下移植モデルを使用した survivin 抑制効果の確認

4. 研究成果

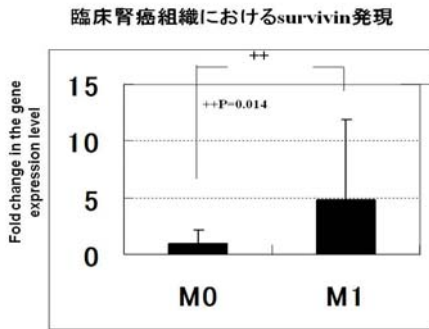
(1) 臨床前立腺組織 (針生検組織) における Survivin および 2 α 、2B の mRNA 発現を real time PCR にて定量した。Survivin mRNA は前立腺肥大症 (BPH) に比し、前立腺癌 (Pca) で有意に過剰発現していた ($P < 0.01$)。前立腺癌ホルモン療法後では発現量が有意に少なかった ($P < 0.01$)。前立腺癌組織の中では、Survivin mRNA の発現は high-grade cancer (Gleason score (GS) 8 or 9) で low-grade cancer (GS7) に比し有意に過剰発現していた ($p < 0.05$)。Survivin 2B/Survivin mRNA 発現比は high-grade cancer では low grade cancer に比し低下傾向であった ($p < 0.10$)。< 英文論文あり >

臨床前立腺組織における survivin の mRNA 発現

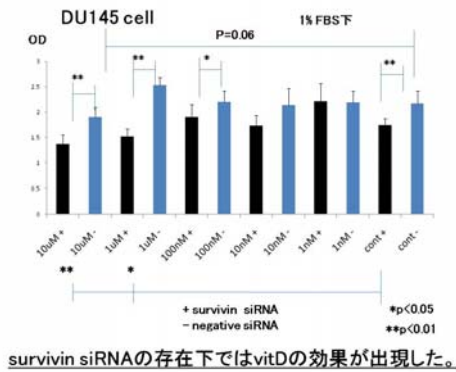


(2) 臨床腎組織 (腎癌手術摘出組織) における survivin と splice variants の mRNA 発現を定量し、survivin の発現量は M1 で M0 と

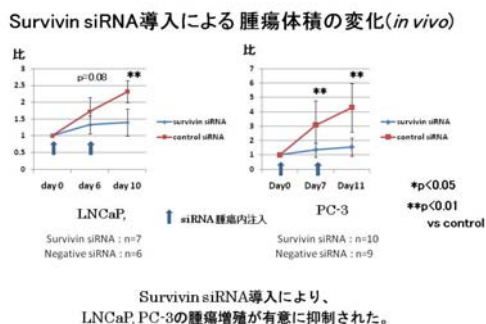
比し有意に過剰発現しており、survivin2BはT3がT1+T2に比し過剰発現していた。
 <英文論文あり>



(3) 前立腺癌においては活性型ビタミンDである $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ とsurvivin発現の関連につき検討した。LNCaPにおいて $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ の濃度依存性に細胞増殖が抑制された。一方、DU145においては細胞増殖抑制をきたさなかったものの、siRNAによるsurvivin mRNAの発現抑制下では、 $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ によりDU145細胞増殖が抑制された。<国際学会発表あり>



(4) ノードマウスにLNCaP, PC-3を移植したモデルでは、Survivin遺伝子に対するsiRNA導入により腫瘍体積の縮小が認められた。<国際学会発表あり>



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2件)

- ① Okamura K, Koike H, Sekine Y, Matsui H, Suzuki K. Survivin and its spliced isoform gene expression is associated with proliferation of renal cancer cells and clinical stage of renal cancer. *Cancer Epidemiol.* 33(2):137-141, 2009 (査読あり)
- ② Koike H, Sekine Y, Kamiya M, Nakazato H, Suzuki K: Gene Expression of Survivin and Its Spliced Isoforms Associated with Proliferation and Aggressive Phenotypes of Prostate Cancer. *Urology.*72(6):1229-1233, 2008. (査読あり)

[学会発表] (計4件)

- ① Koike H, Morikawa Y, Sekine Y, Arai S, Matui H, Shibata Y, Suzuki K. Survivin is associated with cell proliferation and plays a role in $1\alpha, 25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ induced cell growth inhibition in prostate cancer. American Urological Association Annual Meeting. 26. April 2009. (Chicago, Illinois USA)
- ② Koike H, Morikawa Y, Sekine Y, Arai S, Matui H, Shibata Y, Suzuki K. Survivin is associated with cell proliferation and plays a role in $1\alpha, 25\text{-dihydroxyvitamin D}_3$ induced cell growth inhibition in prostate cancer. European Association of Urology Congress. 20 March 2009. (Barcelona, Spain)
- ③ Koike H, Okamura K, Sekine Y, Matui H, Suzuki K. Survivin and its spliced isoform gene expression is associated with proliferation of renal cancer cells and clinical stage of renal cancer. American Urological Association Annual Meeting. 19.May 2008. (Orlando, florida. USA.)
- ④ 小池秀和、関根芳岳、森川泰如、新井誠二、古谷洋介、松井 博、柴田康博、鈴木和浩. 前立腺癌細胞における活性型ビタミン D_3 ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$)によるsurvivinの発現抑制. 日本癌治療学会. 2008. 10月31日. (名古屋市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小池 秀和 (KOIKE HIDEKAZU)

群馬大学・医学部・助教

研究者番号：90420091

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：