

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18132

研究課題名（和文）オートファジーとアポトーシスの相乗効果に着目したスタチンの抗腫瘍効果の研究

研究課題名（英文）Antitumor effect of statin focusing on synergistic effect of autophagy and apoptosis

研究代表者

宮澤 慶行（Miyazawa, Yoshiyuki）

群馬大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：90647083

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,900,000円

研究成果の概要（和文）：去勢抵抗性細胞株、PC-3を用い実験を進めた。スタチン投与によるオートファジー発現増加による細胞死の誘導を確認した。放射線線量ごとにPC-3でオートファジーにどのような変化があるのか、殺細胞効果に変化があるのかを検討した。非スタチン投与下ではオートファジーは発生するが線量依存的な有意な変化はなかった。スタチン投与下ではオートファジー発生は有意に増加し、線量依存的に殺細胞効果が有意に増加した。以上のことから、重粒子線治療とスタチン併用をすることで放射線による殺細胞効果を増強できる可能性があることが示唆された。BH3ミメティクスとスタチンの併用効果を継続して検討している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌の罹患率は増加傾向にあり、男性の罹患するがんの中でも上位となってきた。それに伴って治療抵抗性となった去勢抵抗性前立腺癌患者も増加の一途を辿っている。それらの患者の治療はさまざまな新薬が開発されているがいずれも治療抵抗性になることが臨床的に確認されている。そのような中で現在は放射線核種（ルテシウム、アクチニウムなど）を前立腺膜抗原（PSMA）と結合させ腫瘍細胞に運搬する治療が現実的になりつつある。そのような放射線内療法時にスタチンを投与することを想定した場合、今回の我々の研究結果からスタチンと放射線の併用によるアポトーシス誘導効果は発展、転用できる可能性があるのではないかと考えた。

研究成果の概要（英文）：The castration-resistant prostate cancer cell line, PC-3 was used in the research. We confirmed that statin treatment induced cell death by increasing autophagy expression. We examined the changes in autophagy and cell killing effects in PC-3 at different radiation doses. Without statin treatment, autophagy occurred there was no significant dose-dependent change. With statin treatment, autophagy generation was significantly increased and the cell-killing effect was significantly increased in a dose-dependent manner. These results suggest that the combination of heavy ion therapy and statins may enhance the cell-killing effect of radiation, and the combined effect of BH3 mimetics and statins is being investigated on an ongoing basis.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 去勢抵抗性前立腺癌 オートファジー スタチン 放射線 アポトーシス

1. 研究開始当初の背景

当研究室ではスタチンが持つ前立腺癌増殖抑制効果について研究してきた。近年、オートファジーが癌研究領域で着目され、促進、抑制による効果が研究されている。スタチンにはオートファジー誘導促進効果があること、オートファジー誘導が前立腺癌増殖抑制をもたらすとする報告がある。細胞死メカニズムにはオートファジーの増加が引き起こす細胞死(オートファジー細胞死)と別に、アポトーシスが存在し、アポトーシス誘導効果のある薬剤が他癌腫領域で臨床応用されている。オートファジー細胞死とアポトーシス増加による相乗効果を研究し、既存治療抵抗性前立腺癌の新規治療法の開発に繋がりたいと考えた。

2. 研究の目的

前立腺癌患者は日本において増加傾向にあり、既存治療抵抗性獲得後の治療開発は急務である。私はスタチンが持つ前立腺癌増殖抑制効果について研究してきた。近年、オートファジーが癌研究領域で着目され、促進、抑制による効果が研究されている。スタチンにはオートファジー誘導促進効果があること、オートファジー誘導が前立腺癌増殖抑制をもたらすとする報告がある。細胞死メカニズムにはオートファジーの増加が引き起こす細胞死(オートファジー細胞死)と別に、アポトーシスが存在し、アポトーシス誘導効果のある薬剤が他癌腫領域で臨床応用されている。2018-19年に研究してきたスタチンが引き起こすオートファジー誘導増加とそれがもたらすオートファジー細胞死誘導の研究結果を更に発展させ、オートファジー細胞死とアポトーシス増加による相乗効果を研究し、既存治療抵抗性前立腺癌の新規治療法の開発に繋がりたいと考えた。

3. 研究の方法

1 前立腺癌細胞株に対するスタチン、BH-3 mimetics の併用効果の確認:アンドロゲン非依存性に増殖しCRPCのモデルとされる細胞株(PC-3、DU145、LNCaP-LA、22RV1-LA:当教室で作成したLNCaP、22RV1)をアンドロゲン除去下で培養しCRPC化した細胞を用い、スタチン、BH-3 mimetics を投与し、増殖能(MTS assay)、浸潤能(Invasion assay)、遊走能(Migration assay)を評価し、抗腫瘍効果を確認する。スタチンがアポトーシス誘導効果を持つとする報告もあり併用効果の確認も行う。siRNAでオートファジー発現をノックダウンさせた状態での併用効果も確認する。2 スタチン、BH-3 mimetics の併用時のオートファジー発現の検討:スタチン、BH-3 mimetics をCRPC細胞に投与し、オートファジーに関連する遺伝子、タンパクの発現強度をqPCR法、Western blotで確認する。オートファジーの発現をオートファジー検出キット(Cell Meter TM)と蛍光顕微鏡を用いた確認、電子顕微鏡にて確認を行い、非スタチン投与群とスタチンの濃度別、BH-3 mimetics 濃度別に比較検討する。オートファジー誘導効果をもつ薬剤(Cabazitaxel、mTOR阻害剤; Rapamycinなど)をピックアップし、スタチン、BH-3 mimetics 併用による抗腫瘍効果の増幅についても検討したい。既存薬剤耐性株作成も行い実験する。

3 重粒子線照射、スタチン、BH-3 mimetics 併用時のCRPC細胞でオートファジーの検討:2で行った実験結果をもとに、CRPC細胞株に重粒子線照射を加え、スタチン、BH-3 mimetics+重粒子線照射の併用効果とオートファジー発現に与える効果を検討する。

4 スタチンを投与したゼノグラフトモデルにおけるオートファジー関連遺伝子の発現確認:前立腺癌細胞株をヌードマウスに移植しゼノグラフトモデルを作成、2で検討した併用薬剤とスタチン、BH-3 mimetics 投与による併用効果をin vivoで確認する。5 オートファジー関連遺伝子と前立腺癌患者における悪性度、予後の関連:本研究室に蓄積した前立腺癌検体サンプルから抽出したcDNAを元にオートファジー関連の遺伝子発現の程度と予後などの解析を行う。

4. 研究成果

去勢抵抗性細胞株、PC-3を用い実験を進めた。スタチン投与によるオートファジー発現増加による細胞死の誘導を確認した。放射線線量ごとにPC-3でオートファジーにどのような変化があるのか、殺細胞効果に変化があるのかを検討した。非スタチン投与下ではオートファジーは発生するが線量依存的な有意な変化はなかった。スタチン投与下ではオートファジー発生は有意に増加し、線量依存的に殺細胞効果が有意に増加した。以上のことから、重粒子線治療とスタチン併用をすることで放射線による殺細胞効果を

増強できる可能性があることが示唆された。BH3 ミメティクスとスタチンの併用効果を継続して検討している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Yoshiyuki Miyazawa |
| 2. 発表標題 Antitumor effect mechanism of statin in PCa cells focusing on autophagy |
| 3. 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting 2021 (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 宮澤 慶行 |
| 2. 発表標題 オートファジーに着目した去勢抵抗性前立腺癌細胞に対するスタチンの抗腫瘍効果の研究 |
| 3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 (国際学会) |
| 4. 発表年 2020年 |

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