

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：86301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18144

研究課題名（和文）ビッグデータ解析に基づく前立腺癌の骨転移分子メカニズム解明と新規治療/予防法の探索

研究課題名（英文）Elucidation of molecular mechanisms of bone metastasis of prostate cancer based on big data analysis and search for new treatment/prevention methods

研究代表者

沢田 雄一郎 (Yuichiro, Sawada)

独立行政法人国立病院機構四国がんセンター（臨床研究センター）・その他部局等・医師

研究者番号：80793554

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：ビッグデータ解析に基づき、前立腺癌の骨転移に関与する遺伝子を同定した。当該遺伝子の機能解析を行い、破骨細胞および骨芽細胞などの骨転移に関する要因に及ぼす影響を調べ、当該遺伝子が前立腺癌骨転移に関わっている可能性を見出した。また、当該分子のヒト前立腺癌における発現を調べ、当該遺伝子の発現が骨転移を有する前立腺において上昇していることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ビッグデータ解析に基づき、前立腺癌の骨転移に関与する遺伝子を同定した。当該遺伝子の機能解析を行い、破骨細胞および骨芽細胞などの骨転移に関する要因に及ぼす影響を調べ、当該遺伝子が前立腺癌骨転移に関わっている可能性を見出した。また、当該分子のヒト前立腺癌における発現を調べ、当該遺伝子の発現が骨転移を有する前立腺において上昇していることを見出した。これらの結果は前立腺癌骨転移の分子メカニズム解明と新規治療の基盤となるものであると考えられ、癌の進展、骨転移による疼痛や骨折などの骨関連有害事象に対する治療構築の礎となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Based on big data analysis, genes involved in bone metastasis of prostate cancer were identified. Functional analysis of the gene was conducted to investigate its effect on factors related to bone metastasis, such as osteoclasts and osteoblasts. We also investigated the expression of the gene in human prostate cancer to elucidate the molecular mechanism of bone metastasis in prostate cancer and to establish the basis for novel therapies.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 骨転移 ビッグデータ

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は早期診断、早期治療により高い確率で根治が見込める癌腫であるが、治療抵抗性前立腺癌や進行性前立腺癌はリンパ節転移や内臓転移のみならず骨転移を高頻度で起こし、予後の悪化や、疼痛や骨折、麻痺などによる患者 QOL の低下を招くこととなる。骨転移治療薬として破骨細胞分化制御因子 RANKL に対する抗体であるデノスマブやラジウム 233 などの放射性同位元素が臨床応用され、多大な効果を発揮している。しかしながら、ビスホスホネート製剤または抗 RANKL 抗体は顎骨壊死などの副作用が起きやすく、放射性同位元素は実施施設の制約や薬価が非常に高価であるなど、安全面や医療経済面で解決すべき問題は多い。

しかしながら、現在、がんの骨転移の分子メカニズム解明の研究対象となっているのは骨髄腫または乳がんが多く、前立腺癌の骨転移については、臨床的側面の研究報告が中心であり、前立腺癌特異的な骨転移のメカニズム解明についての詳細な研究成果は、これまでのところほとんど報告されておらず、前立腺癌に特異的な予防/治療法は確立されていない。この問題を解決すべく、申請者は革新的予防/治療法の開発につながる前立腺癌骨転移の詳細な分子メカニズムの解明を目指した。

2. 研究の目的

上記の問題を解決すべく、申請者は革新的予防/治療法の開発につながる前立腺癌骨転移の詳細な分子メカニズムの解明を目指した。また、がん転移の分子機構の概念の一つである seed and soil 説をふまえ、蛋白間結合による骨転移を想定し、候補遺伝子を膜分子または細胞外基質から抽出指定することから、愛媛大学が独自に開発しているコムギ無細胞蛋白合成技術の応用が可能である。これにより、本研究は前立腺癌における骨転移の成立機構の解明に留まらず、骨転移予防/治療のための、蛋白結合を阻害する低分子化合物の探索の基盤とすることを目的とした。

3. 研究の方法

前立腺癌特異的な骨転移制御因子を同定するため、申請者は、前立腺癌細胞株の生物学的特徴に着目した。これまでマウスを用いた骨転移モデルにおいて、骨転移しやすいアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 (PC-3 及び DU-145) と骨転移しにくいアンドロゲン依存性前立腺癌細胞株 (未処理の LNCaP) が報告されている。我々はまず、バイオインフォマティクス的手法を用いて骨転移しやすい細胞株 (PC-3 および DU-145) で発現が高く、骨転移しにくい細胞株 (LNCaP) で発現が低い、101 の膜分子または細胞外基質関連遺伝子を抽出した。

次に、ヒトサンプルから得られる癌細胞遺伝子発現データベースより骨転移を認める前立腺癌患者の原発巣で発現上昇を認める 185 遺伝子を抽出した。

このようにして細胞株から得られた遺伝子群と患者サンプルから得られた遺伝子群で各々発現頻度が 4 倍以上の重複する 7 遺伝子を骨転移に関連する候補遺伝子として同定した。

候補遺伝子の機能解析のため、CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集により候補遺伝子をノックアウトした PC-3 Luc 細胞を作出しヌードマウス脛骨近位への骨髄内注射により直接播種させ、腫瘍細胞の生着・増大を *in vivo* 発光イメージング装置にて経時的に解析したところ、親株細胞に比し骨転移が著明に抑制された。一方、MTT Assay により細胞増殖能を確認したところ、大きな変化は認められなかった。

また、候補分子と、破骨細胞、骨芽細胞との関連を明らかにするため、候補遺伝子ノックアウト PC-3 細胞の細胞上清を破骨細胞に添加したところ、コントロール群に比べ破骨細胞の分化能が低下していた。この現象は、候補分子の添加により救済された。

これらの結果より、候補分子が、破骨細胞の分化に関わっていることが示された。

さらに、ヒト前立腺癌サンプルにおける当該分子の発生頻度を組織免疫染色法を用いて検討し、骨転移の有無及び予後との相関の解析を行った。これらの解析については、生体試料支援プラットフォームの分担者である神奈川県立がんセンター臨床研究所技幹の宮城洋平先生と共同で研究を行い、新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」コホート・生体試料支援プラットフォームの支援によりサンプルを提供頂いた。

4. 研究成果

ピックデータ解析に基づき、前立腺癌の骨転移に関与する遺伝子を同定した。当該遺伝子の機能解析を行い、破骨細胞および骨芽細胞などの骨転移に関する要因に及ぼす影響を調べ、当該遺伝子が前立腺癌骨転移に関わっている可能性を見出した。また、当該分子のヒト前立腺癌における発現を調べ、当該遺伝子の発現が骨転移を有する前立腺において上昇していることを見出した。これらの結果は前立腺癌骨転移の分子メカニズム解明と新規治療の基盤となるものであると考

えられ、癌の進展、骨転移による疼痛や骨折などの骨関連有害事象に対する治療構築の礎となる可能性がある。

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 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 沢田雄一郎 |
| 2. 発表標題 GPCR5A は前立腺癌の細胞増殖および 骨転移を促進する |
| 3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 沢田雄一郎 |
| 2. 発表標題 ビックデータ解析を駆使した 前立腺癌骨転移の予防 / 治療法の開発 |
| 3. 学会等名 第39回日本アンドロロジー学会学術大会（招待講演） |
| 4. 発表年 2021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 | | |
|---------|-----------------------|--|--|
| ハンガリー | Semmelweis University | TTK Cancer Biomarker Research Group | |