

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2012

課題番号：22791489

研究課題名（和文） Lo-MYC マウスを用いた前立腺癌の Chemoprevention

研究課題名（英文） Chemoprevention for prostate cancer using Lo-MYC mice

研究代表者

岩田 健 (Iwata Tsuyoshi)

京都府立医科大学・医学研究科・助教

研究者番号：00552209

研究成果の概要（和文）：

MYC マウスは生後 4 週で prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) を生じ、生後 1 年で前立腺癌を生じることを確認した。C-MYC 蛋白は PIN の発生と同時に高発現し C-MYC の高発現が前立腺組織を PIN へと移行させるのに十分であることが示唆された。浸潤癌になる時には C-MYC 蛋白の発現が一時的に低下し、その後再び高発現した。また、Nkx3.1 蛋白については MYC 蛋白の発現とは逆の関係を示し、発癌に伴う複雑な分子生物学的メカニズムの解明につながる知見を得た。

MYC マウスは生後 4 週で prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) を生じ、生後 1 年で前立腺癌を生じることを確認した。C-MYC 蛋白は PIN の発生と同時に高発現し C-MYC の高発現が前立腺組織を PIN へと移行させるのに十分であることが示唆された。浸潤癌になる時には C-MYC 蛋白の発現が一時的に低下し、その後再び高発現した。また、Nkx3.1 蛋白については MYC 蛋白の発現とは逆の関係を示し、発癌に伴う複雑な分子生物学的メカニズムの解明につながる知見を得た。

研究成果の概要（英文）：

We verified that MYC mice develop PIN and early prostate cancer that resemble the human disease. Our new data show: (i) C-MYC appears to be sufficient to morphologically transform prostate cells into PIN; (ii) C-MYC protein is decreased and Nkx3.1 protein is increased transiently during invasion; (iii) inflammatory cell infiltrates accompany the development and progression of PIN to prostate cancer. These results validate the MYC mouse to model early human prostate cancer and reveal complex dynamics of C-MYC and Nkx3.1 protein expression and inflammation during disease progression.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

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・マウス・C-MYC・免疫組織化学

1. 研究開始当初の背景

わが国における前立腺癌患者の増加は著しいものがあり、早期診断、早期治療の確立が望まれている。癌の化学予防は癌治療における究極目標であるが、前立腺癌の化学予防を確立し、前立腺癌患者を減少させることができれば医学的貢献は計り知れない。前立腺癌の化学予防効果を有する薬剤として5 α reductase inhibitor (Tompson, J Urol, 2007)、緑茶成分であるカテキン (Syed, Cancer Letters, 2008)、豆類に含まれるイソフラボン (Banerjee, Cancer Letters, 2008) などに関する報告が vitro, vivo、また疫学的研究から散見される。しかしこれまで前立腺癌の優れた動物モデルは少なく in vivo での科学的根拠は十分であるとは言い難い。

C-MYC は前立腺癌で高発現している癌遺伝子であるが、ヒト C-MYC をマウス前立腺で過剰発現させると Prostatic intraepithelial neoplasia (PIN)、やがては浸潤癌を生じることが報告されており MYC マウスと名づけられている (Ellwood-Yen, Cancer Cell, 2003)。これまで報告された代表的な前立腺

癌自然発生モデルである TRAMP マウスでは、前立腺癌組織において神経内分泌分化や Androgen Receptor (AR) の発現消失が認められる、核小体の腫大が認められない、などといったヒト前立腺癌を反映しない問題点がいくつかあった。しかし MYC マウスではこれらの問題点は認められず (Ellwood-Yen, Cancer Cell, 2003)、よりヒトの前立腺癌に近い動物モデルとして注目を集めている。

本研究では組織学的にヒト前立腺癌に極めて近い MYC マウスが前立腺癌の化学予防モデルとして適切かどうか判断するために、まず MYC マウスの組織学的な自然史を明らかにする。加齢とともに前立腺癌がどの段階で生じ、C-MYC 蛋白や他の癌関連蛋白がどのように発現するかにつき検討する。また、これまで癌予防効果があると報告されてきた 5 α reductase inhibitor、カテキン、イソフラボンを投与し予防効果を認めるかどうか、どのような組織学的変化をきたすかを評価し、さらには癌予防の分子生物学的メカニズムを検討することによって前立腺癌の化学予防モデルを確立することが第一の

目的である。

様々な臓器で炎症と発癌の関連性を示唆する報告は多々あるが、最近前立腺の発癌においても炎症が重要な役割を担っているとする報告が散見される (De Marzo, Nat Rev Cancer, 2007)。本研究では MYC マウスにおける発癌過程でも炎症細胞の増殖が認められるか否かについても検討する。十全大補湯は滋養強壯作用を有する漢方薬であるが *in vivo* の実験で癌転移の抑制効果を認めたとする報告があり、(Saiki, 2006, Biotherapy) その機序はマクロファージや T リンパ球という免疫系を介したものであるとされている。我々は MYC マウスにおける発癌過程に炎症細胞が関与し、それが十全大補湯によって抑制されるのではないかと推測している。十全大補湯のように、これまで報告例のない新しい薬剤を用いて MYC マウスにおける癌の化学予防効果を検討することが第二の目的である。

2. 研究の目的

MYC マウスが前立腺癌化学予防モデルとして適切かどうか判定するために MYC マウスの自然史を明らかにし、 5α reductase inhibitor、カテキン、イソフラボンを投与し予防効果を認めるかどうか、どのような組織学的変化をきたすかを判定すること、また、十全大補湯のように、これまで報告例のない新しい薬剤を用いて MYC マウスにおける癌の化学予防効果を検討することが目的である。

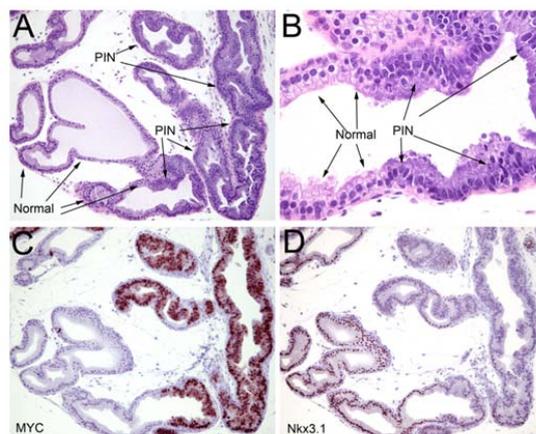
3. 研究の方法

MYC マウスの自然史を検討するために様々な週齢で前立腺を摘出し組織学的変化を検討した。また、C-MYC, Nkx3.1, AR に対する免疫組織化学を施行し、各蛋白の発現について経時的变化を検討した。また、発癌過程における炎症細胞の関与について評価するために CD45 (白血球のマーカー) や F4/80 (マクロファージのマーカー) に対する免疫組織化学も施行した。

4. 研究成果

MYC マウスでは生後 4 週で prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) を生じ、生後 1 年で前立腺癌を生じることを確認した。生後 2 年まで観察を継続したが、他臓器への転移を認めなかった。また、これまでの前立腺癌マウスモデルでは認めなかった核小体の腫大が MYC マウスの PIN や癌において認められ、組織学的にヒトの前立腺癌に類似しているものと考えられた。また、PIN から浸潤癌に移行する段階の初期浸潤癌のような病変を同定することができた。ヒト前立腺癌では発癌過程を組織学的に検討することは困難であり有意義な結果であると考えられた。

さらに C-MYC 蛋白が PIN の発生と同時に高発現しており、C-MYC 蛋白の高発現が前立腺組織を PIN へと移行させるのに十分であると考



えられた(図 1)。

図 1 生後 4 週、前立腺

MYC マウスは生後 4 週で PIN を生じた。H&E 染色(A)では正常腺組織と PIN が混在している。強拡大(B)では PIN は細胞や核の増大、核小体の腫大とクロマチン増生を示した。C-MYC 蛋白の発現は形態学的な変化と同時であった(C)。Nkx3.1 蛋白の発現は C-MYC 蛋白の発現とほぼ逆であった(D)。

また、浸潤癌になる時には C-MYC 蛋白の発現が一時的に低下し、その後再び高発現した。また、前立腺癌の腫瘍抑制蛋白である Nkx3.1 蛋白については C-MYC 蛋白の発現とは逆の関係を示し、発癌に伴う複雑な分子生物学的メカニズムの解明につながる知見を得た(図 2)。

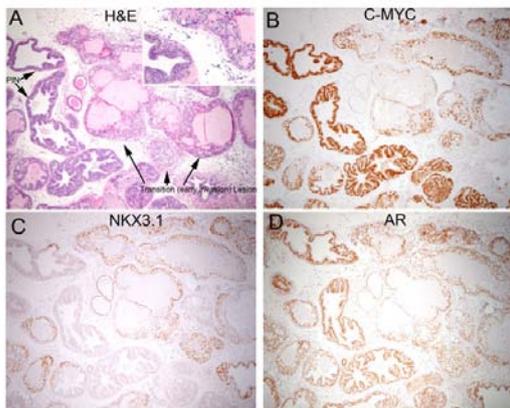


図 2 生後 52 週、前立腺

H&E 染色(A)では生後 52 週で初期浸潤癌を示している。C-MYC 蛋白の発現は低下しており(B)、Nkx3.1 蛋白の発現は増加している(C)。AR の発現は維持されている(D)。

また、Androgen receptor(AR)の発現を各週齢で検討したが、浸潤癌においても AR の発現は保たれていた。この所見もこれまでのマ

ウスモデルには認めない、ヒト前立腺癌に類似した組織学的特徴と考えられた。

また、MYCマウスが浸潤癌を呈する生後52週以降の前立腺組織ではCD45(白血球のマーカー)やF4/80(マクロファージのマーカー)陽性の細胞が増加しており(図 3)、発癌との関連が示唆された。これらの知見は前立腺発癌のメカニズムの解明につながり、化学予防実験を施行する上でも重要な知見となることが予想された。

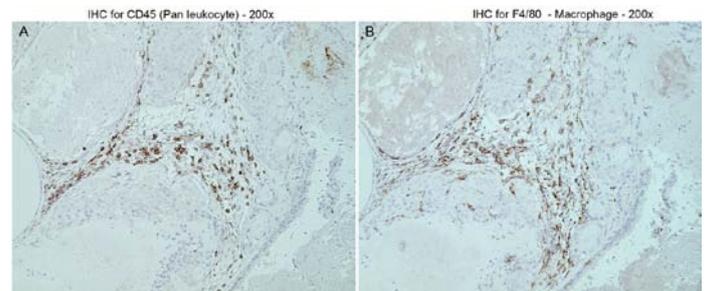


図3 生後18ヶ月、前立腺

CD 45 (A)陽性および F4 / 80(B)陽性細胞が前立腺間質に多数認められた。

前立腺癌の化学予防については現在までカテキン、5 α 還元酵素阻害薬によりMYCマウスの発癌やPINを予防する可能性について検討中である。

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 4 件)

1. Global levels of H3K27me3 track with differentiation in vivo and are deregulated by MYC in prostate cancer. Pellakuru LG, Iwata T, et al. Am J pathol. 2012 Aug;181(2):560-9
2. Myc enforces overexpression of EZH2 in early prostatic neoplasia via transcriptional and post-transcriptional mechanisms. Koh CM, Iwata T et al. Oncotarget. 2011 Sep;2(9):669-83
3. Alterations in nuclear structure and gene expression programs in prostatic

neoplasia are driven by the MYC oncogene. Koh CM, Gurel B, Iwata T et al. Am J Pathol. 2011 Apr;178(4):1824-34

4. MYC overexpression induces prostatic intraepithelial and loss of Nkx3.1 in mouse luminal epithelial cells. Iwata T, De Marzo et al. PLoS One. 2010 Feb 25;5(2):e9427. doi:10.1371/journal.pone.0009427

〔学会発表〕（計 1 件）

1. Lo-MYC マウスにおける前立腺癌発生過程の形態学的変化と C-MYC の発現. 岩田健、高羽夏樹、三木恒治ら 第 98 回日本泌尿器科学会総会. 2010. 4. 27;岩手

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岩田 健 (Iwata Tsuyoshi)

京都府立医科大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：00552209