

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592380

研究課題名(和文) 前立腺癌のアンドロゲン受容体に対するアンタゴニストのアゴニスト化の解明

研究課題名(英文) Elucidation of agonistic changes of the antagonists of androgen receptor of prostate cancer

研究代表者

西山 勉(Nishiyama, Tsutomu)

新潟大学・医歯学系・准教授

研究者番号：70208239

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：アンドロゲンとアンドロゲン受容体(AR)は前立腺癌増殖の主軸である。ARアンタゴニスト(AT)はしばしばアゴニスト(AG)化し、前立腺癌を増殖させるが、AG化の機序は不明である。我々は、転写共役因子の変化を用いて、前立腺癌のアンドロゲン受容体に対するATのAG変化の機序を明らかにした。前立腺癌細胞に対するフルタミドのATからAGに変化する過程で、NKX3-1の発現亢進を認めた。前立腺癌細胞にAT作用を示すピカルタミドを添加しても、NKX3-1の発現亢進およびAG作用への変化を検出しなかった。本研究成果により、その作用点を標的とした新たな治療戦略を検討できる。

研究成果の概要(英文)：Androgen and androgen receptor (AR) is the main axis of prostate cancer growth. AR antagonists in androgen deprivation therapy for prostate cancer often show agonistic action and lead to prostate cancer growth; however, the mechanisms of agonistic changes are unknown. We elucidated the agonistic change of the antagonists of androgen receptor of the prostate cancer using changes of the cofactors. We detected the enhanced expression of NKX3-1 during the agonistic change of antagonist of flutamide for prostate cancer cells using real-time PCR and Western Blot analyses. We did not detect the change of the expression of NKX3-1 and agonistic action while adding the antagonist, bicalutamide, to prostate cancer cells.

The agonistic change of the antagonists of androgen receptor of the prostate cancer in the results of this research can develop into the new treatment strategy that targets the mechanism.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺癌 アンドロゲン抑制療法 アンドロゲン アンドロゲン受容体 アンタゴニスト アゴニスト
共役因子 NKX3.1

1. 研究開始当初の背景

アンドロゲンとアンドロゲン受容体は前立腺癌増殖の軸である。アンドロゲン抑制療法において、アンドロゲン受容体のアンタゴニストはしばしばアゴニスト化し、前立腺癌を増殖させるが、アゴニスト化の機序は不明である。

2. 研究の目的

本研究は、前立腺癌細胞株を用いてアンドロゲン受容体のアンタゴニスト投与下における転写共役因子の発現の変化を検討し、アンタゴニストのアゴニスト化の作用機序を解明することにある。

3. 研究の方法

前立腺癌細胞株としては、LNCaP、VCaP を用いた。アンドロゲン受容体のアンタゴニストとしては臨床で広く使われているフルタミド (HF)、ピカルタミド (BC) を用いた。フルタミドは LNCaP に対してはアゴニスト作用を示す。男性ホルモンとしてジヒドロテストステロン (DHT) を投与する場合は、アンドロゲン抑制療法下の生理的濃度として 10-9M で添加した。共役因子は 57 種を選定し、各種共役因子の LNCaP、VCaP におけるフルタミド、ピカルタミド投与による変化をリアルタイム PCR でスクリーニングを行った。著明な発現亢進があった共役因子を Western Blot にて確認した。またその共役因子の細胞増殖に対する効果を electroporation にて siRNA で knock-down し、培養液中の PSA 濃度で増殖を確認した。

4. 研究成果

検討した共役因子中、NKX3-1、NCOA2 の発現

亢進を認めた。

(1) NKX3-1 は LNCaP への HF 投与でのみ著明な mRNA の発現亢進を認めた (DHT 投与下で 4.17 倍、DHT 非投与下で 16.33 倍)。NKX3-1 の下流因子と報告されている RAB3B も NKX3-1 よりは弱いものの亢進傾向が認められた。(DHT 投与下で 1.91 倍、DHT 非投与下で 3.54 倍) NKX3-1 は Western Blotting でも蛋白の発現亢進が認められた。siRNA で NKX3-1 を knock-down すると上清 PSA 値の低下を認めた。この環境 (LNCaP、HF) では他に著明亢進した共役因子はなかった。NKX3-1 は前立腺癌に対しては一般的に corepressor 作用であると報告されてきたが、LNCaP に HF が加わった環境では coactivator として作用していると考えられた。NKX3-1 は HF のアゴニスト化に関与していると考えられた。

(2) NCOA2 は DHT 投与下で LNCaP への BC 投与でのみ著明な mRNA の発現亢進を認めた (4.01 倍)。NCOA2 の発現亢進は Western Blot で蛋白レベルでも認められた。siRNA で NCOA2 を knock-down すると上清 PSA 値の上昇を認めた。NCOA2 は coactivator としての報告されてきたが、今回の実験結果からは LNCaP への BC 投与下では corepressor として作用していると考えられた。

(1)、(2)ともに、NKX3-1、NCOA2 は従来報告されてきた転写制御とは逆方向に調節していると考えられた。この様に共役因子は他の転写に関わる様々な因子の存在で左右されうると考えられ、臨床環境ごとに確認が必要と考えられた。

本研究成果により、その作用点を標的とした新たな治療戦略を検討できる。

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 8 件)

1. Satoh T, Uemura H, Tanabe K, Nishiyama T, Terai A, Yokomizo A, Nakatani T, Imanaka K, Ozono S, Akaza H. A phase 2 study of abiraterone acetate in Japanese men with metastatic castration-resistant prostate cancer who had received docetaxel-based chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2014 Dec;44(12):1206-15. (査読有)
 2. Matsubara N, Uemura H, Satoh T, Suzuki H, Nishiyama T, Uemura H, Hashine K, Imanaka K, Ozono S, Akaza H. A phase 2 trial of abiraterone acetate in Japanese men with metastatic castration-resistant prostate cancer and without prior chemotherapy (JPN-201 study). *Jpn J Clin Oncol*. 2014 Dec;44(12):1216-26. (査読有)
 3. Hara N, Nishiyama T. Androgen metabolic pathway involved in current and emerging treatment for men with castration resistant prostate cancer: intraprostatic androgens as therapeutic targets and endocrinological biomarkers. *Curr Drug Targets*. 2014;15(13):1215-24. (査読有)
 4. Nishiyama T. Serum testosterone levels after medical or surgical androgen deprivation: a comprehensive review of the literature. *Urol Oncol*. 2014 Jan;32(1):38.e17-28. (査読有)
 5. 西山勉、前立腺癌アンドロゲン抑制療法のパラダイムシフト *Pharma Medica* 32(3): 21-27, 2014. (査読無)
 6. 西山勉、前立腺癌とテストステロン 排尿障害プラクティス 22(1): 69-76, 2014. (査読無)
 7. 西山勉、前立腺癌診療のパラダイム・シフト 新潟県医誌会報H26.5 No 770. 2-10, 2014. (査読無)
 8. Ishizaki F, Nishiyama T, Kawasaki T, Miyashiro Y, Hara N, Takizawa I, Naito M, Takahashi K. Androgen deprivation promotes intratumoral synthesis of dihydrotestosterone from androgen metabolites in prostate cancer. *Sci Rep*. 2013;3:1528. (査読有)
- [学会発表](計 1件)
1. 武田啓介、西山勉、田崎正行、矢尾板永信、石崎文雄、原昇、瀧澤逸大、高橋公太. 前立腺癌アンドロゲンレセプターに対する抗アンドロゲン剤のアゴニスト化のメカニズム：共調節因子の発現および機能の変化. 第103回日本泌尿器科学会総会. 2015年4月18日～2015年4月21日. ホテル日航金沢 (石川県金沢市).
- [図書](計 0件)
- [産業財産権]
出願状況(計 0件)
- 名称：
発明者：

権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究代表者

西山 勉（NISHIYAMA Tsutomu）
新潟大学・医歯学系・准教授
研究者番号：70208239

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：