

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592383

研究課題名(和文)オートファジーの制御は前立腺癌治療のブレイクスルーとなりえるか

研究課題名(英文) Can the regulation of autophagy be a new target for the treatment of prostate cancer?

研究代表者

伊藤 秀明 (ITO, HIDEAKI)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00345620

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)：mTOR抑制剤であるテムシロリムスにより前立腺癌細胞にオートファジーが誘導され、細胞増殖が抑制された。ドセタキセルは低用量でオートファジーを、高用量ではアポトーシスを誘導した。低用量のドセタキセルをテムシロリムスと併用すると細胞増殖の抑制効果が増強し、オートファジー誘導は減弱、アポトーシスが誘導された。

これらからmTOR阻害剤の前立腺癌に対する抗腫瘍効果は、タキサン系抗癌剤との併用によりが増強し、その機序としてオートファジー誘導の減弱とアポトーシス誘導の関与が示唆された。臨床への応用として投与抗癌剤を低用量化することにより抗癌剤有害事象を軽減できる可能性が期待された。

研究成果の概要(英文)：Temsirolimus (TEM) induced autophagy but did not induce apoptosis even in high-dose treatment. The combination of low-dose docetaxel (DTX) and TEM caused a 34% suppression of cell proliferation compared to monotherapy with a higher dose in both the PC3 and LNCaP cells. The induction of apoptosis was increased in the DTX + TEM combination group compared to the monotherapy groups. The combination with low-dose DTX, which did not induce apoptosis by monotherapy, off-set the induction of autophagy by TEM, which indicates that-DTX suppressed the TEM-induced autophagy. The combination treatment suppressed tumor growth to 72 % less than the control group 14 days after the initial treatment in vivo.

In the combination therapy, DTX induced apoptosis by overcoming the autophagy induced by TEM and enhanced the effect of suppression of cell proliferation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

オートファジーはもともと細胞の飢餓状態で観察される細胞の防御反応として認識されていたが、近年ウイルス感染やホルモン治療などの様々なストレスによっても引き起こされる反応であることが分かってきた。オートファジーは癌の抑制・進行のいずれにも寄与することがこれまでの報告で示されている。オートファジーの制御による新たな治療概念が模索され始めている。進行前立腺癌に対する内分泌療法は、そのほとんどの症例で治療開始後 2-3 年の間に治療抵抗性を獲得し、ホルモン抵抗性癌となる。このような再燃前立腺癌に対しては各種抗癌化学療法が試みられているが、満足いく成績は得られていないのが現状であり、新たな治療法の確立が待ち望まれている。われわれはこれまでに他の癌種細胞株を用いた研究でオートファジー誘導による癌治療研究を行ってきた。前立腺癌に対する内分泌療法は前立腺癌細胞を栄養するアンドロゲンを除去することにより抗腫瘍効果を発揮する治療であり、前立腺癌細胞を飢餓状態にするという意味においてはまさにオートファジー誘導による抗癌治療と考えられる。最近の知見として、ホルモン感受性細胞株 LNCaP がアンドロゲン除去下にオートファジーが誘導されることが示されている。

2. 研究の目的

去勢抵抗性前立腺癌に対して臨床使用されている薬物治療の効果は満足いくものではなく、新しい治療法の登場が期待されている。細胞死の一種であるオートファジーは一方で、飢餓状態の細胞の防御反応ともなる。前立腺癌を栄養するアンドロゲンをブロックする内分泌療法ではまさにこのオートファジーが誘導されており、この飢餓状態をオートファジーの防御反応で乗り切っている細胞をいかに細胞死に追い込むかが治療効果をさらに高め、将来内分泌不応となる癌細胞を死滅させることが期待できる。さらに内分泌不応となった前立腺癌細胞に対してオートファジー誘導がどのような効果をもたらすのかを解明する。

3. 研究の方法

2 種類の前立腺癌細胞株(アンドロゲン非依存細胞の PC3、アンドロゲン依存細胞の LNCaP)を用いて mTOR 阻害薬と、既存の抗癌剤との併用による抗腫瘍効果をオートファジーの誘導に着目して検討した。

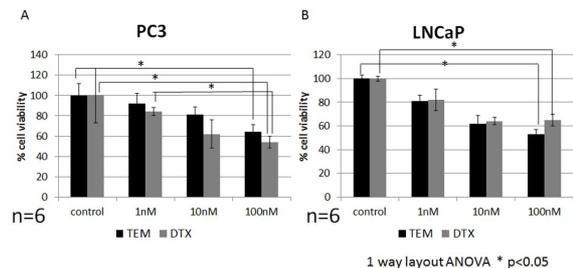
mTOR 阻害によりオートファジーが誘導されることが報告されている。

(1) mTOR 阻害薬のテムシロリムスと現在去勢抵抗性前立腺癌治療に使用されている抗癌剤ドセタキセルを種々の濃度で培地に加え、細胞増殖抑制効果とオートファジー、アポトーシスの誘導を検討した。

(2) マウスの皮下に PC3 細胞を移植した前立腺癌モデルを作成し、テムシロリムス、ドセタキセルによる治療効果を判定した。マウスは以下の 4 群に分けた。コントロール群；生食を投与。ドセタキセル群；細胞を皮下移植後に 11, 18 日目に 4mg/kg のドセタキセルを投与。テムシロリムス群；11, 12, 13, 18, 19, 20 日目にテムシロリムスを投与。併用群；、 と同スケジュールで両剤を投与。

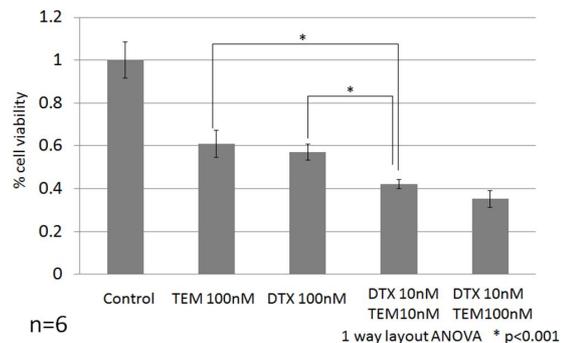
4. 研究成果

(1) mTOR 抑制剤であるテムシロリムスにより PC3, LNCaP の両細胞株とも濃度依存的に細胞増殖が抑制された。アンドロゲン非依存細胞の PC3 は 100nM のテムシロリムス、ドセタキセルによりそれぞれ約 60%、50%に細胞増殖が抑制された。(図 1)



(図 1)

10nM のテムシロリムス、ドセタキセルによる細胞増殖はそれぞれ約 80%、60%に抑制されるにとどまったが、この濃度で両剤を併用すると細胞増殖は 40%に抑制された。(図 2)



(図 2)

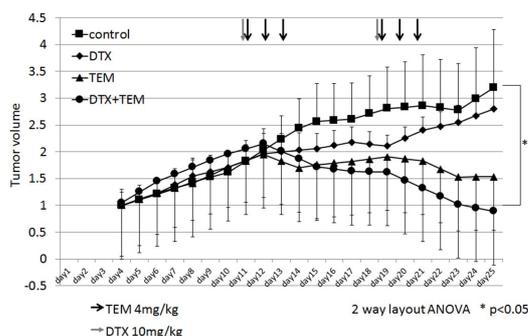
蛋白発現の解析を行うと両細胞株ともにテムシロリムス投与によりオートファジーが誘導されることが確認された。

一方、去勢抵抗性前立腺癌に対して臨床応用されているタキサン系抗癌剤であるドセタキセルは前立腺癌細胞株に対して低用量(10nM)ではオートファジーを誘導し、高用量(100nM)ではアポトーシスを誘導することが示された。

前述のとおり、低用量のドセタキセルをテム

シロリムスと併用すると細胞増殖の抑制効果が増強したが、さらに興味深いことに併用によりオートファジーの誘導が減弱し、かわってアポトーシスが誘導された。

(2)併用による増殖抑制効果はマウスを用いた動物実験においても証明された。ドセタキセル 10mg の週 1 回投与ではコントロール群と比較して腫瘍縮小効果は得られていない。テムシロリムスの週 3 回投与により腫瘍体積は 75%程度に抑制された。2 剤を併用すると治療 2 週間には開始時の 50%に縮小した。これらの治療によるマウスの体重減少は認められず、副作用は軽微と考えられる。(図 3)



(図 3)

これらの結果から mTOR 阻害剤の前立腺癌に対する治療効果が示唆され、タキサン系抗癌剤との併用により抗腫瘍効果が増強することが示された。併用による効果増強の機序としてはオートファジー誘導の減弱とアポトーシスの誘導の関与が示唆された。臨床への応用として投与抗癌剤を低用量化することにより抗癌剤有害事象を軽減できる可能性が期待された。

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 6 件)

Ito H, Taga M, Tsuyama K, Akino H, Yokoyama O. IPSS is lower in hypertensive patients treated with angiotensin-II receptor blocker: posthoc analyses of a lower urinary tract symptoms population. *Neurourol Urodyn* 2013, 32:70-74 査読有. doi: 10.1002/nau.22267.

Tsuyama K, Ito H, Taga M, Naganuma S, Oshinoya Y, Nagano K, Yokoyama O, Itoh H. Expression of MicroRNAs associated with Gleason grading system in prostate cancer: miR-182-5p is a useful marker for high grade prostate cancer. *Prostate* 2013, 73:827-834 査読有. doi:10.1002/pros.22626.

楠川直也, 石田泰一, 棚瀬和弥, 伊藤秀明, 青木芳隆, 大山伸幸, 秋野裕信, 横山修. パクリタキセル・カルボプラチン抵抗性前立腺癌に対してドセタキセル・プレドニンが著功した 1 例. *泌尿器科紀要* 2013, 59: 301-304, 査読有.

伊藤秀明, 稲村 聡, 多賀峰克, 土山克樹, 楠川直也, 大山伸幸, 秋野裕信, 横山修. 血液透析中の去勢抵抗性前立腺癌に対し docetaxel/prednisolone 併用療法が奏功した 1 例. *癌と化学療法* 2013, 40: 1245-1247, 査読有.

伊藤秀明, 稲村 聡, 関 雅也, 多賀峰克, 三輪吉司, 横山 修. 鏡視下腎摘出術の臨床的検討; 一地方大学病院における施設としてのラーニングカーブ. *Japanese Journal of Endourology* 2013, 26: 246-251, 査読有.

Taga M, Ito H, Kusukawa N, Miwa Y, Akino H, Imamura Y, Yokoyama O. Surgical Treatment of Adrenal Gland Metastasis Originating from Small Cell Carcinoma of the Urinary Bladder. *Case Reports in Urology* 2013, 査読有. doi: 10.1155/2013/982787.

[学会発表](計 8 件)

稲村 聡, 伊藤秀明, 多賀峰克, 土山克樹, 小林基弘, 横山 修: 前立腺癌細胞株における Docetaxel と mTOR 阻害薬併用による抗腫瘍効果の検討, 第 102 回日本泌尿器科学会総会, 2014.4.26, 神戸国際会議場(神戸市)

稲村 聡, 伊藤秀明, 多賀峰克, 土山克樹, 伊藤浩史, 横山 修: 前立腺癌細胞株における mTOR 阻害薬処理下での autophagy に関する検討, 第 72 回日本癌学会総会, 2013.10.3, パシフィコ横浜(横浜市)

伊藤秀明, 稲村 聡, 多賀峰克, 土山克樹, 大山伸幸, 秋野裕信, 今村好章, 横山修: 当科における前立腺癌リスク分類別の根治的前立腺摘除術の治療成績, 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 2013.4.25, さっぽろ芸術文化の館(札幌市)

多賀峰克, 伊藤秀明, 稲村 聡, 土山克樹, 長沼誠二, 伊藤浩史, 横山 修: mTOR 阻害薬で誘導されるオートファジーの阻害が腎細胞癌増殖に及ぼす影響, 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 2013.4.25, さっぽろ芸術文化の館(札幌市)

稲村 聡, 伊藤秀明, 多賀峰克, 土山克樹, 伊藤浩史, 横山 修: 前立腺癌細胞株における mTOR 阻害薬処理下での autophagy に関する検討, 第 101 回日本泌尿器科学会総会, 2013.4.25, さっぽろ芸術文化の館(札幌市)

多賀峰克, 伊藤秀明, 稲村 聡, 土山克樹, 長沼誠二, 横山 修, 伊藤浩史: mTOR 阻害薬で誘導されるオートファジーの障害が腎癌細胞増殖に及ぼす効果, 第 35 回日本分子生物学会年会, 2012.12.11, 福岡国際会議

場（福岡市）

土山克樹，伊藤秀明，多賀峰克，伊藤浩史：前立腺癌における microRNA と Gleason grading system の関連性，第 71 回日本癌学会学術総会，2012.9.21，さっぽろ芸術文化の館（札幌市）

伊藤秀明，多賀峰克，土山克樹，横山修：アンドロゲン除去培養下の LNCaP に対するオートファジー抑制の効果，第 100 回日本泌尿器科学会総会，2012.4.22，パシフィコ横浜（横浜市）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.u-fukui.ac.jp/home/ufms/file/kenkyu/welcome.html>

6．研究組織

(1)研究代表者

伊藤 秀明 (ITO, HIDEAKI)

福井大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00345620

(2)研究分担者

多賀 峰克 (TAGA, MINEKATSU)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00529349

横山 修 (YOKOYAMA, OSAMU)

福井大学・医学部・教授

研究者番号：90242552

土山 克樹 (TSUCHIYAMA, KATSUKI)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：90464073

稲村 聡 (INAMURA, SOU)

福井大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50572434