

平成 28 年 10 月 7 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462493

研究課題名(和文) アンジオテンシン1-7による前立腺癌細胞のアンドロゲンレセプター発現調整の解明

研究課題名(英文) Analysis of Angiotensin 1-7 to modulate androgen receptor expression in prostate cancer cells

研究代表者

上村 博司 (Uemura, Hiroji)

横浜市立大学・附属市民総合医療センター・教授

研究者番号：50244439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちは、レニン-アンジオテンシン系が前立腺癌の発生や進展に関わっていることを報告してきた。その中で、アンジオテンシン2がAT1レセプターに結合して、前立腺癌の増殖を促進し、そのレセプターブロッカーがそれを抑制することを、実験的また臨床的に証明してきた。この研究では、AngIIからアンジオテンシン変換酵素2(ACE2)によって変換されるペプチドのAng1-7が抗腫瘍効果を有する基礎研究を行った。前立腺癌はアンドロゲン受容体(AR)に強く関与しており、Ang1-7がAR発現を抑制する可能性について、基礎研究を行った。

研究成果の概要(英文)：We have reported that renin-angiotensin system is involved in the development and progression of prostate cancer. Angiotensin II (AngII) receptor blocker was proven to have the potential of antitumor effect that was demonstrated by experimental and clinical investigation. This study showed that Angiotensin 1-7 (Ang1-7) which is converted from AngII by angiotensin converting enzyme 2 may have also antitumor effect for prostate cancer. We performed the experiment that demonstrated Ang1-7 may influence androgen receptor in prostate cancer cells.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：前立腺癌 レニン-アンジオテンシン系 アンジオテンシン1-7

1. 研究開始当初の背景

私たちは、レニン-アンジオテンシン系が前立腺癌の発生や進展に関わっていることを報告してきた。その中で、アンジオテンシン2がAT1レセプターに結合して、前立腺癌の増殖を促進し、そのレセプターブロッカーがそれを抑制することを、実験的また臨床的に証明してきた。

AngIIからアンジオテンシン変換酵素2(ACE2)によって変換されるペプチドのAng1-7が抗腫瘍効果を有するとした基礎研究が報告されている。ACE阻害剤は、直接ACE2には作用しないが、AngI濃度を上昇させることによってAng1-7産生を促進したり、Ang1-7の分解を予防したりする間接的な作用を持つと推察されている。Ang1-7は、AngIIレセプターのAT1RあるいはAT2Rには結合せず、GPCRであるMasレセプターに結合することが分かっている。一方、アンジオテンシン2レセプターの一つであるAT2レセプターは、心血管系細胞においてAT1レセプターシグナルと拮抗作用があり、血圧降下作用や心血管系細胞の増殖抑制などがあるとの報告がある。

2. 研究の目的

近年、Angの変換ペプチドであるアンジオテンシン1-7(Ang1-7)が抗腫瘍効果を有するとした基礎研究が報告されているが、前立腺癌細胞におけるAng1-7についての詳細な報告は少ない。当研究において、前立腺癌の発生や進展に深く関与するアンドロゲンレセプター(AR)の発現調整の観点から、Ang1-7の抗腫瘍効果の分子メカニズムを探索する。また、Ang AT1レセプターとAng1-7 MASレセプターの相違する細胞内シグナル伝達系を同定することで、アンドロゲン非依存的なAR調整機構を明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) Ang-(1-7)を前立腺癌細胞(DU145, PC3, LNCaP)に刺激して、細胞増殖を調べる。さらに、LNCaPでのAR発現についてタンパクおよびmRNAレベルで調べる。
- (2) MASレセプター発現プラスミドや活性化型ACE2を前立腺癌細胞(DU145, PC3, LNCaP)に遺伝子導入あるいは添加刺激して、細胞増殖をMTTアッセイで調べる。MASレセプターのsiRNAを前立腺癌細胞に遺伝子導入して、細胞増殖を調べる。さらに、MASレセプターのsiRNAによるLNCaP細胞でのAR発現変化をタンパクおよびmRNAレベルで調べる。
- (3) In vivo実験：上記実験で抗腫瘍効果をもつアンジオテンシンペプチドのAng-(1-7)、投与による、担癌マウスの増殖抑制効果を調べる。
- (4) ヒト前立腺組織(正常前立腺、前立腺肥大症、未治療前立腺癌、再燃前立腺癌)における、ACE2やMASレセプター発現を定量化測定するため、real-time PCRを用いて調べる。

4. 研究成果

AT2レセプターリガンドの前立腺癌細胞に対する作用について検討した。細胞増殖に対しては、濃度依存的に抑制することが分かった。これは、アンドロゲンレセプター(AR)の有無に関係なく、どの前立腺癌細胞でも抑制効果を示した。また、ARに対するC21の影響を調べたところ、アンドロゲン(DHT)が細胞質でARと結合して核内に移行するのを、C21は抑制していることが分かった。前立腺癌を発症するトランスジェニックラット(TRAP)を用いて、C21を継続投与して前立腺癌発症の影響について調べた。その結果、病理学的解析によると前立腺癌の発症は抑制された。以上の結果より、AT2レセプターリガンドであるC21は、前立腺癌発症を抑え

る可能性が示唆された。

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)

- (1) Izumi K, Taguri M, Miyamoto H, Hara Y, Kishida T, Chiba K, Murai T, Hirai K, Suzuki K, Fujinami K, Ueki T, Udagawa K, Kitami K, Moriyama M, Miyoshi Y, Tsuchiya F, Ikeda I, Kobayashi K, Sato M, Morita S, Noguchi K, Uemura H. Androgen deprivation therapy prevents bladder cancer recurrence. *Oncotarget*, 2014 Dec 24.
- (2) Miyoshi Y, Uemura H, Umemoto S, Sakamaki K, Morita S, Suzuki K, Shibata Y, Masumori N, Ichikawa T, Mizokami A, Sugimura Y, Nonomura N, Sakai H, Honma S, Harada M, Kubota Y. High testosterone levels in prostate tissue obtained by needle biopsy correlate with poor-prognosis factors in prostate cancer patients. *BMC Cancer*. 2014 Sep 26;14(1):717. 10.1186/1471-2407-14-717.
- (3) Yang D J, Pham L, Liao M-H, Kong F-L, Uemura H, and Shih Y-Y I. Advances in Molecular Pathway-Directed Cancer Systems Imaging and Therapy. *BioMed Research International*. Volume 2014, Article ID 639475,
- (4) Miyoshi Y, Furuya M, Teranishi J, Noguchi K, Uemura H, Yokomizo Y, Sugiura S, Kubota Y. Comparison of 12- and 16-Core Prostate Biopsy in Japanese Patients with Serum Prostate- Specific Antigen Level of 4.0-20.0 ng/mL. *Urol J*. 2014 Jul 8;11(3):1609-14.
- (5) Matsubara N, Uemura H, Fukui I, Niwakawa M, Yamaguchi A, Iizuka K, Akaza H. Phase-1 Study of Abiraterone Acetate in Chemotherapy-naïve Japanese Patients with Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Sci*. 2014 Aug 13. doi: 10.1111/cas.12496.
- (6) 上村博司, 伊藤悠亮, 星野耕二, 高橋智, 窪田吉信, アンジオテンシンレセプターブロッカーの前立腺癌発生予防の実験的検証、日本腎泌尿器疾患予防医学研究会誌、2013、21(1): 103-105
- (7) 上村博司, 佐野太, 窪田吉信, 前立腺がんの造影超音波診断-治験の経緯と今後の展望、*インナービジョン*、2013、28(3): 51-54
- (8) Sato A, Itcho N, Ishiguro H, Okamoto D, Kobayashi N, Kawai K, Kasai H, Kurioka D, Uemura H, Kubota Y, Watanabe M. Magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ enhance docetaxel-induced prostate cancer cell death. *Int J Nanomedicine*. 2013;8:3151-60.
- (9) Rao GA, Mann JR, Bottai M, Uemura H, Burch JB, Bennett CL, Haddock KS, Hébert JR. Angiotensin receptor blockers and risk of prostate cancer among United States veterans. *J Clin Pharmacol*. 2013 Jul;53(7):773-8.
- (10) Uemura H, Yanagisawa M, Ikeda I, Fujinami K, Iwasaki A, Noguchi S, Noguchi K, Kubota Y; Yokohama Bone Metastasis Study Group. Possible anti-tumor activity of initial treatment with zoledronic acid with hormonal therapy for bone-metastatic prostate cancer in multicenter clinical trial. *Int J Clin Oncol*. 2013 Jun;18(3):472-7.
- (11) Uemura H, Sano F, Nomiya A, Yamamoto T, Nakamura M, Miyoshi Y, Miki K, Noguchi K, Egawa S, Homma Y, Kubota Y. Usefulness of perflubutane microbubble-enhanced ultrasound in imaging and detection of prostate cancer: phase II multicenter clinical trial. *World J Urol*. 2013 Oct;31(5):1123-8.

〔雑誌論文〕(計 11 件)

〔学会発表〕(計 15 件)

〔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

上村博司 (Uemura Hiroji)

(横浜市立大学附属市民総合医療センター
教授)

研究者番号：50244439

(2)研究分担者

窪田吉信 (Kubota Yoshinobu)

(横浜市立大学 学長)

研究者番号：10106312