

前立腺癌新規治療薬の開発

大日方大亮¹⁾, 藤原恭子²⁾, 高山賢一³⁾, 浦野友彦³⁾, 山口健哉¹⁾,
上野高浩⁴⁾, 福田 昇⁴⁾, 井上 聡⁵⁾, 高橋 悟¹⁾

The development of novel prostate cancer therapeutic agents

Daisuke OBINATA¹⁾, Kyoko FUJIWARA²⁾, Ken-ichi TAKAYAMA³⁾,
Tomohiko URANO³⁾, Kenya YAMAGUCHI¹⁾, Takahiro UENO⁴⁾,
Noboru FUKUDA⁴⁾, Satoshi INOUE⁵⁾, Satoru TAKAHASHI¹⁾

要旨

前立腺細胞においてアンドロゲンおよびアンドロゲンレセプター (AR) は細胞増殖, さらには細胞癌化と密接に関係している。最近, 前立腺癌において染色体再配列によりアンドロゲン応答遺伝子TMPRSS2と癌原遺伝子ERGが融合し, 進行ならびに治療抵抗性に関与することが注目されている。今回, 大豆イソフラボンの活性体であるエコールと我々が開発した融合遺伝子抑制PIポリアミドを用い, 前立腺癌細胞増殖と, 融合遺伝子の発現頻度の差を検討したところ, 融合遺伝子発現と前立腺癌細胞増殖において有意な抑制が認められた。エコールならびにPIポリアミドは, 融合遺伝子の発現を抑制することにより前立腺癌の発癌ならびに進行を抑制しており, 新規治療薬剤のマテリアルとしての可能性が示唆された。

1. はじめに

前立腺細胞においてアンドロゲンおよびアンドロゲンレセプター (AR) は細胞増殖, さらには細胞癌化と密接に関係している。臨床的に汎用される前立腺癌治療法の一つにアンドロゲン除去療法があり, AR作用の抑制を介して前立腺癌の進行を抑制させる。しかし, 治療経過とともに, 癌細胞の形質が変化し, アンドロゲン除去療法が無効 (castration-resistant) になり, その後の治療に難渋することが多いことが問題点となっている。

最近, 前立腺において染色体再配列によりアンドロゲン応答遺伝子TMPRSS2と癌原遺伝子ETS familyが融合し, 細胞の癌化, または癌の悪性度およびアンドロゲン感受性が変化することが報告され, 注目されている¹⁾。興味深いことに欧米の前立腺癌症例の約80%に発現が認められたとの報告がある一方,

本邦における発現率は約16%前後と低く, 地域/人種差が認められている。この地域/人種差を決定する要因の一つとして食習慣の差が考えられ, 中でも欧米人と日本人の間で摂取量の差が約700倍と言われている大豆イソフラボン (ゲニステイン, ダイゼイン, グリステイン) は有力な原因因子である。本研究において, 大豆イソフラボンの活性体であるエコールを用い, 前立腺癌に与える影響, 特に増殖能力と, 融合遺伝子の発現頻度の差を検討し, さらにエコールと相乗効果のある化学物質を見出し, 将来の副作用の少ない前立腺癌新規治療薬の開発を目指した。

2. 方法

ヒト前立腺癌細胞株LNCaP細胞 (アンドロゲン刺激を行わないとTMPRSS2融合遺伝子を発現しな

1) 日本大学医学部泌尿器科学系泌尿器科学分野
2) 日本大学医学部内科学系総合内科学分野
3) 東京大学医学部附属病院老年病科
4) 日本大学医学部内科学系腎臓高血圧内分泌内科学分野
5) 東京大学大学院医学系研究科抗加齢医学講座
大日方大亮: obinata.daisuke@nihon-u.ac.jp

いことが知られている) をエコール投与群と非投与群に分け、既報を参考にDehydrotestosterone (DHT) を用いたアンドロゲン刺激を行い、それぞれの群で融合遺伝子ならびに下流遺伝子の発現量と細胞増殖能/遊走能を測定した。

融合遺伝子の発現量はLNCaPからRNAを抽出後、cDNAを作製しTMPRSS2-ERGと下流遺伝子であるERGを対象としたqRT-PCRを行った。また細胞増殖能および遊走能は、MTSアッセイおよびCell migrationアッセイを用いて検討した。

3. 結果

まずLNCaP細胞にエコール1 μ Mならびに5 μ Mを投与した結果、TMPRSS2-ERG遺伝子の発現抑制が確認された。同遺伝子の標的遺伝子であるERGに加え、アンドロゲン応答遺伝子であるPSAの発現がエコール5 μ M投与で抑制された(図1)。

MTSアッセイではDHT刺激後4日目のエコール5 μ M投与された細胞群において有意に細胞増殖抑制効果が認められた(図2)。

遊走能アッセイにおいても同様に有意な抑制効果が得られた。続いて、我々が開発したTMPRSS2-ERG抑制ポリアミド²⁾を用いて同様の検討をLNCaP細胞ならびに、もともとTMPRSS2-ERGが発現している前立腺癌細胞株VCaP細胞に対し行ったところ、LNCaP細胞においてはエコールと同様の融合遺伝子発現及び増殖抑制効果を示す一方、VCaP細胞には影響が認められなかった²⁾。

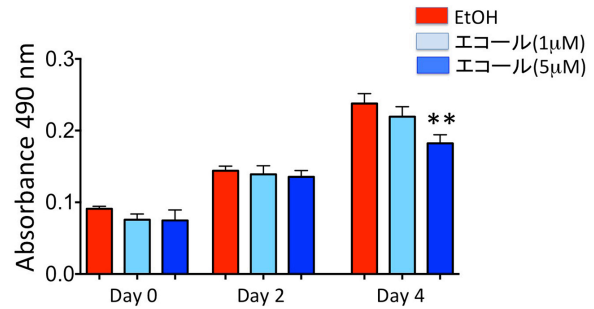


図2 エコールは前立腺癌細胞増殖を抑制させる。図1と同様にアンドロゲン抑制培地で培養したLNCaP細胞にDHT 100 nMならびにEtOHもしくはエコールを投与し指定された時間後MTSアッセイを行い、それぞれの生細胞数を測定、比較した。

4. 考察

アンドロゲン応答遺伝子TMPRSS2および癌原遺伝子ERGのイントロン内にあるAREとARが結合する際に、近傍にある共通配列が切断され、遺伝子転座ならびに融合遺伝子を発生させることが報告されている³⁾。イソフラボンは前立腺癌においてAR活性を抑制させる方向に働くことが過去の報告で認められている⁴⁾。本検討によりイソフラボンはARを抑制させることにより、TMPRSS2-ERG遺伝子を抑制する可能性が示唆された。さらにTMPRSS2-ERG抑制ポリアミドは共通配列を標的としており、VCaP細胞のようにすでに発現している融合遺伝子には影響を与えない代わりに、染色体転座抑制による融合遺伝子の新規発生を減少させ、細胞増殖能に影響を与えることが判明した。結論としてエコールおよびPIポリアミドを併用することにより、相互

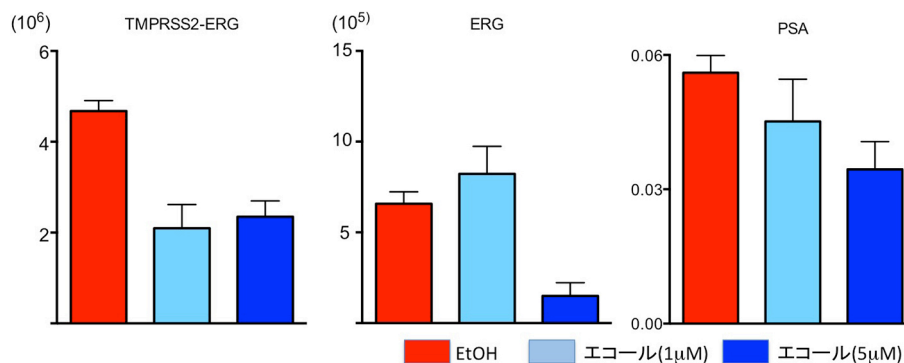


図1 エコールはAR陽性前立腺癌細胞LNCaPにおいてTMPRSS2-ERG融合遺伝子の発現を抑制する。アンドロゲン抑制培地で培養したLNCaP細胞にDHT 100 nMおよびEtOHもしくはエコールを投与、48時間後RNAを回収し、それぞれqRT-PCRを行った。

の抑制機序を補える強力な癌細胞増殖抑制効果が得られる可能性が示唆された²⁾。

文 献

- 1) Tomlins SA, Rhodes DR, Perner S et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science*. 2005; **310**: 644-8.
- 2) Obinata D, Ito A, Fujiwara K et al. Pyrrole-imidazole polyamide targeted to break fusion sites in TMPRSS2 and ERG gene fusion represses prostate tumor growth. *Cancer Sci*. 2014; **105**: 1272-8.
- 3) Lin C, Yang L, Tanasa B et al. Nuclear receptor-induced chromosomal proximity and DNA breaks underlie specific translocations in cancer. *Cell*. 2009; **139**: 1069-83.
- 4) Li Y, Wang Z, Kong D, Li R, Sarkar SH, Sarkar FH. Regulation of Akt/FOXO3a/GSK-3beta/AR signaling network by isoflavone in prostate cancer cells. *J Biol Chem*. 2008; **283**: 27707-16.