

2. 前立腺癌の悪性を促進する ACSL3 を標的とした PI ポリアミドの開発

1) 背景

食生活の欧米化や高齢化社会の到来に伴い、我が国において前立腺癌による罹患率、死亡者数が近年増加している。2011 年度における罹患率は胃癌、大腸癌について 3 位であり、男性の全部位悪性腫瘍の 14.8% を占める。今後も増加することは間違いなく、2020 年以降に胃癌を抑えて罹患率が 1 位になると予測されている。

前立腺癌の増殖、進行において、男性ホルモンであるアンドロゲンが促進的な役割を果たしていることから、アンドロゲン除去療法が前立腺癌の治療法の一つとして汎用されている。アンドロゲンが結合するとアンドロゲン受容体 (AR) は核内に移行し、転写補助因子と協調しながら標的とする遺伝子の転写を促進する。アンドロゲン応答遺伝子の中には細胞増殖や遊走の促進、アポトーシス耐性の獲得を誘導するものが多く含まれており、過剰なアンドロゲンシグナル伝達系の活性化は前立腺癌の発生や進展を促す。さらに、アンドロゲンシグナル経路の破綻は、アンドロゲン除去療法の効かない去勢抵抗性前立腺癌への進行に繋がる。

我々はこれまでに転写協調因子である Oct1 が AR の転写活性をゲノムワイドに制御し、前立腺癌の悪性度や予後に影響することを確認した。さらに、Oct1 により発現制御を受けるアンドロゲン応答遺伝子の一つ acyl-CoA synthase 3 (ACSL3) が前立腺癌の悪性を促進するとの知見を得た。これらの成果をふまえ、我々は ACSL3 プロモーター上の Oct1 結合サイトを認識する PI ポリアミド (Oct1 ポリアミド) を設計し (図 1)、前立腺癌に対する抗腫瘍効果の検討を行った。

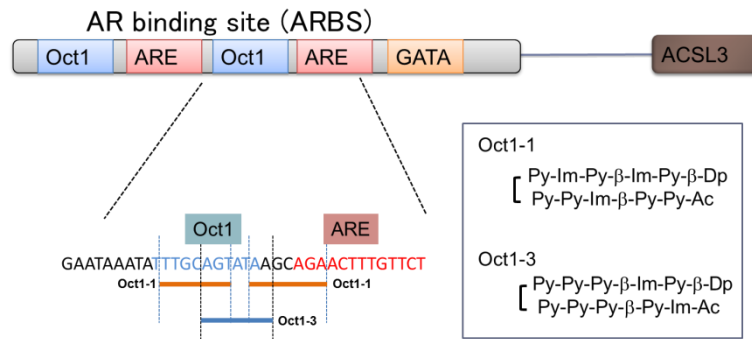


図 1 Oct1 ポリアミドの DNA 認識部位と構造

2) 結果

合成した Oct1 ポリアミドの品質を質量分析および HPLC により解析した後、ゲルシフトアッセイを行い、同ポリアミドが標的 DNA 配列に対して特異的に結合できる事を確認した。培養系において前立腺癌細胞 LNCaP にアンドロゲンを投与すると ACSL3 の発現が誘導されるが、1 ないし 5 μ M の Oct1 ポリアミドの存在下では、その発現誘導が有意に抑えられることを real-time PCR および western blotting により確認した。Oct1 結合領域を含む ACSL3 プロモーターにルシフェラーゼを結合させたベクターを細胞に導入し、ルシフェラーゼ活性を測定したところ、Oct1 ポリアミドはその活性を大きく低下させた。このことから、Oct1 ポリアミドによる ACSL3 の発現抑制は、ACSL3 のプロモーターの転写活性を抑制した結果生じていることが証明できた。

細胞増殖能に対する効果をWST8により調べたところ、Oct1 ポリアミド投与により LNCaP 細胞の増殖が有意に抑制されることが確認できた。また Oct1 ポリアミドが LNCaP 細胞の浸潤能を抑制することも、Matrigel Invasion assay により確認した。

次に *in vivo* における効果を確認するために、LNCaP 細胞を免疫不全マウス皮下に移植し、腫瘍が一定のサイズに達した時点で、尾静脈より Oct1 ポリアミドを投与した。投与は週 1 回、1 ヶ月間行い、腫瘍サイズを経時的に観察した。その結果、Oct1 ポリアミド投与群はコントロールと比較して、腫瘍増殖が有意に抑えられていた(図 2)。

この現象はアンドロゲン依存性に増殖能を示す LNCaP のみならず、非依存性の前立腺癌細胞株 22Rv1 においても確認できた。

22Rv1 は通常の AR とリガンドであるアンドロゲンの比存在下でも常に活性化状態にある変異型 AR を持ち、アンドロゲン非存在下でも高い増殖能・浸潤能を示す。Oct1 ポリアミドの投与により、22Rv1 における ACSL3 の発現は抑制され、*in vitro* における細胞増殖能、浸潤能、加えて *in vivo* での腫瘍増殖能を有意に抑制した。

既存の前立腺治療薬ドセタキセルおよびビカルタミドとの比較薬効試験を行ったところ、細胞生存率の抑制効果はこれらの薬剤よりも高いとは言えなかったが、細胞浸潤能に対しては同等の抑制効果を示した¹⁾。

3) 考察・今後の展望

以上の結果より、Oct1 ポリアミドは新規前立腺癌治療薬として非常に有望であることが示されたため、現在 GMP グレードの大量合成の準備を行っている。さらに、同ポリアミドはアンドロゲン非依存性の細胞株に対しても効果を示したことから、アンドロゲン除去療法の効かない去勢抵抗性前立腺癌に対する治療薬としても効果が期待できる。同ポリアミドについては、現在特許申請中である。「新規 PI ポリアミド (ACSL3 の発現を抑制し、抗腫瘍作用を示すポリアミド) 特願 2013-48126 (PCT/JP2014/056251), 出願人; 日本大学、発明者; 大日方大亮、高橋悟、藤原恭子、井上聡、高山賢一」

引用文献

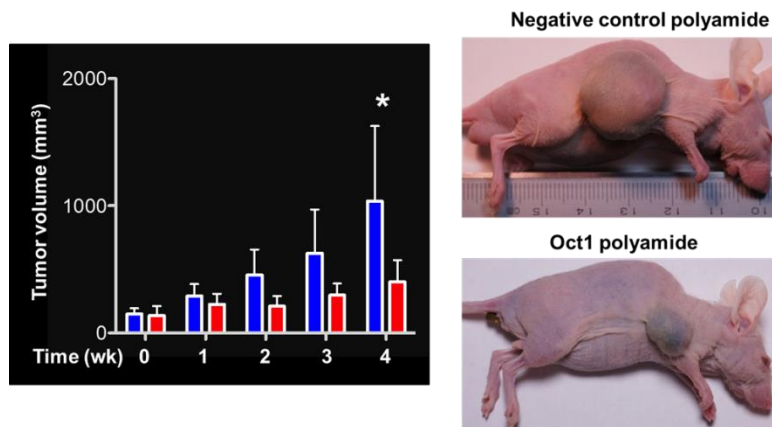


図 2 Oct1 ポリアミドの *in vivo* における抗腫瘍効果
免疫不全マウス皮下に LNCaP 細胞を移植し、腫瘍サイズが 200mm³を超えた時点より、PI ポリアミドを経尾静脈投与した。投与は 6mg/kg 体重の PI ポリアミドを週 1 回、1 ヶ月間行った。青が陰性コントロール PI ポリアミド投与群、赤が Oct1 ポリアミド投与群の腫瘍サイズ。右に、最終投与後 1 週間目の代表的な個体の写真を示す。

1) Obinata D*, Takayama K*, Fujiwara K, Suzuki T, Tsutsumi S, Fukuda N, Nagase H, Fujimura T, Urano T, Homma Y, Aburatani H, Takahashi S, Inoue S. Targeting Oct1 genomic function inhibits androgen receptor signaling and castration-resistant prostate cancer growth. *Oncogene in press*