

新規ヒストン脱メチル化酵素阻害剤とオートファジー制御による去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療法の開発

申請者 名古屋市立大学大学院医学研究科
腎・泌尿器科学分野 研究員 恵谷 俊紀

共同研究者 名古屋市立大学大学院医学研究科
腎・泌尿器科学分野 講師 河合 憲康
腎・泌尿器科学分野 助教 内木 拓
実験病態病理学 講師 内木 綾
腎・泌尿器科学分野 病院講師 安藤 亮介
腎・泌尿器科学分野 臨床研究医 飯田 啓太郎

【背景・目的】これまで私たちは、本学で創製した新規 LSD1 阻害剤である NCL1 の治療効果について、ホルモン感受性前立腺癌への効果とそのメカニズムを報告してきた。さらに、細胞の生存のための防御反応として腫瘍領域でも注目されているオートファジーに着目し、NCL1 とオートファジー阻害剤の併用効果の有用性を報告した。

本研究では、前立腺癌が去勢抵抗性を獲得する過程における LSD1 の癌制御機序を解明し、この遺伝子を標的とした新規治療法を確立するための基礎的研究をその目的としている。そのため下記に示すように、ヒト検体および動物モデル系において検討を行った。

- (1) 皮下移植動物モデルおよびヒト前立腺全摘除術検体を用いたホルモン療法による LSD1 発現変化の解析
- (2) 皮下移植動物モデルを用いた去勢環境下における LSD1 阻害剤およびオートファジー制御の効果の検討

【方法と結果】

(1) 皮下移植動物モデルおよびヒト前立腺全摘除術検体を用いたホルモン療法による LSD1 発現変化の解析：まず、前立腺癌皮下移植動物モデルでの検討を行った。6 週齢の KSN/nu-nu ノードマウスに、本学で樹立した前立腺癌細胞株 PCa1 1×10^6 個を皮下移植した。個体を 4 群にわけ、段階的に外科的去勢を施し、皮下移植から 5 週後にすべての個体をサクリファイスした。去勢なし群、去勢後 1 週群、去勢後 2 週群、去勢後 4 週群の 4 群について、皮下腫瘍における Androgen receptor の発現や LSD1 の発現につき、免疫染色で

評価した。

去勢なし群では、Androgen receptor や LSD1 は腫瘍細胞の核内に強い発現を認めた。去勢後の時間経過に伴い、Androgen receptor の核内における発現は経時的に低下していったが、LSD1 の発現は減少を認めず、去勢後 4 週間においても強い発現を示した (図 1)。

これまで私たちは、去勢感受性前立腺癌細胞株 LNCaP や去勢抵抗性前立腺癌細胞株 PC3、22Rv1、PCa11 において LSD1 がいずれの細胞株においても強い発現を認めること、LSD1 阻害剤 NCL1 がこれら細胞株に対して濃度依存的に生存細胞数を抑制することを確認、報告してきた。

以上より、生体内においても去勢感受性の有無にかかわらず LSD1 が前立腺癌に発現していることが確認され、LSD1 阻害剤は去勢抵抗性の有無を問わず、抗腫瘍薬として使用できる可能性を示した。現在、ヒト前立腺全摘検体の Tissue array の作成を進めており、今後ヒト検体における検討を進めていく予定である。

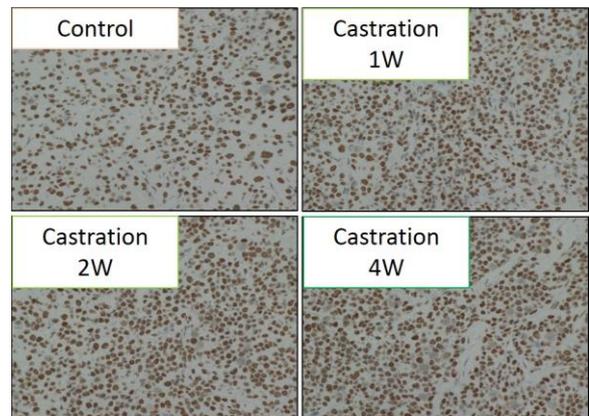


図1 去勢後の皮下腫瘍のLSD1発現の変化

(2) 皮下移植動物モデルを用いた去勢環境下における LSD1 阻害剤およびオートファジー制御の効果の検討: 6 週齢の KSN/nu-nu ノードマウスに、外科的去勢を施し、4 日後に前立腺癌細胞株 PCa11 2×10^6 個を皮下移植した。皮下移植の 10 日後から、LSD1 阻害剤あるいはオートファジー阻害剤クロロキンと週 2 回腹腔内投与し、腫瘍径および体重を計測した。3.5 週間投与後に、サクリファイスし、皮下腫瘍、肺、肝、腎、リンパ節を採取し、評価した。

皮下腫瘍の体積については、コントロール群に比べ、LSD1 阻害剤投与群では有意に小さく、腫瘍の増殖が抑制されていた (図 2)。

また、肺・肝・腎については明らかな異常所見を認めず、臓器重量についてもコントロール群と有意差を認めなかったことから、明らかな有害事象は認めなかった。CD31 免疫染色ではコントロール群に比べ LSD1 阻害剤投与群で有意に腫瘍血管数が少なくなっていた。また TUNEL 染

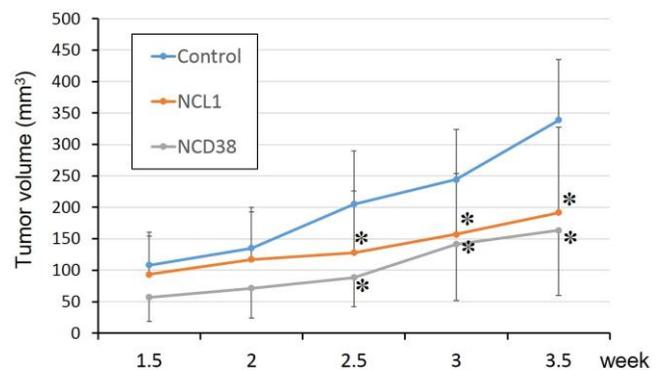


図2 皮下腫瘍の体積

色では、コントロール群に比べLSD1阻害剤投与群で有意にTUNEL陽性細胞が増加しており、アポトーシスの誘導が示唆された。以上より、LSD1阻害剤の生体内での抗腫瘍効果は、アポトーシスの誘導や腫瘍血管抑制による可能性が示された。

オートファジー阻害剤クロロキンについては、クロロキン単独群、およびLSD1阻害剤とクロロキンの併用群を用いて評価したが、クロロキン単独群についてはコントロール群と比較して腫瘍体積には有意な差は見られなかった。また、LSD1阻害剤との併用群では、腫瘍体積はLSD1阻害剤単独群と比較してさらに小さい傾向が見られたが、実験経過中にマウスが死亡してしまい、全実験期間における評価に至らなかった。この点については、クロロキンの安全域が小さい可能性があり、オートファジー阻害剤を他剤へ変更すること、あるいはクロロキンの投与量の再設定のための予備実験を計画し、現在引き続き検討中である。

【まとめ】LSD1阻害剤は去勢感受性前立腺癌のみならず去勢抵抗性前立腺癌においても、新規治療薬となりうる可能性が示された。また、オートファジー阻害剤との併用により、さらに治療効果を増強することが期待されるが、併用治療の生体内での効果やその安全性については、さらなる検討が必要であると考えられた。