

【総説】

前立腺癌とアンドロゲン受容体

Prostate cancer and androgen receptor

金沢大学大学院医学系研究科がん医科学専攻集学的治療学
(泌尿器科学)

溝 上 敦

要 旨

ホルモン依存性の癌の中でも前立腺癌は非常にその依存度が強く、進行性前立腺癌でも90%以上の症例でアンドロゲン除去により進行を抑制できる。アンドロゲン依存性増殖を示す前立腺癌において増殖の鍵となる遺伝子はアンドロゲン受容体 (AR) である。アンドロゲンを完全に除去すると、通常ARは核内に入らず、ARは活性を持たない。しかし、アンドロゲンを体内から完全に除去することは難しく、去勢レベルのわずかなアンドロゲンでも様々な機序によりARが活性化され、核内に移行し、前立腺癌が再燃する。ARの関与する再燃の機序を明らかにすることによって前立腺癌に対する治療戦略が立てることが可能となるだろう。

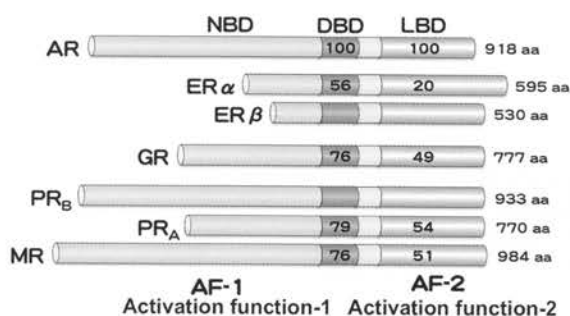
はじめに

前立腺癌は、USAでは罹患率が全体の28% (238,500人) と男性の癌の中で最も頻度が高く、死亡率も全体の10% (29,720人) で2番目の癌である。日本でも食生活の西欧化とともに徐々に増加している癌でもある。進行性前立腺癌に対しては、アンドロゲン除去療法 (外科的、内科的去勢) が主として行われる。前立腺癌は、リンパ節や骨に転移があっても去勢により90%以上の症例で症状や腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA) の値の改善が認められる。これは乳癌でのERより明らかに多くの前立腺癌でARが発現しており、アンドロゲンが増殖因子として癌の進行に多大な影響を与えているためである。しかし、やがて進行性前立腺癌の多くは去勢に抵抗し、PSAの再上昇、症状の悪化が生じる (去勢抵抗性前立腺癌castration resistant prostate cancer, CRPC)。再燃

時にも、多くの場合アンドロゲン受容体 (AR) が重要な働きをしていると考えられている。本稿では前立腺癌で発現しているAR、およびそのまわりを取り囲む微小環境、ARを中心に考えた再燃の機序について述べたい。

前立腺癌におけるARの発現、蛋白構造、ARの活性化

ARはステロイドホルモン受容体スーパーファミリーの一員で、ターゲットとなる遺伝子 (例えばPSA) の転写調節を行う核内受容体である (図1)。アンドロゲンの結合したARは数多くの遺伝子の発現を調節する。AR mRNAの転写調節は、プロモーターのGC boxやGGGA繰り返し配列、転写開始点周囲のCpG領域が基本転写には非常に重要と考えられている (図2)。AR mRNAは8つのexonからなり、そのうち1.1 kbの5'非翻訳領域 (5'-UTR) はAR蛋白質の翻訳に必須の領域である。AR蛋白質は約918アミノ酸からなり、N末のexon AはARの活性に重要な領域 (activating factor-1, AF-1) である。また、この領域にはグルタミン繰り返し配列 (CAG repeat) とグリシン繰り返し配列 (GCC repeat) が存在し、各個人でその長さに違いがみられる。一般にCAG repeatの長さが長くなるほどARの活性が低下する。Kennedy syndromeと呼ばれるX連鎖球脊髄性萎縮症ではこのARのCAG repeatの長さが異常に長くなったためにARの活性が弱くなった結果として発症する先天性疾患である。しかし、CAG repeat数と発癌やホルモン療法の反応性との関係にはまだ賛否両論ある。Exon B, Cは二つのZnフィンガーモチーフを持つDNA結合領域をコードする。二つのZnフィンガーはターゲット遺伝子のプロモーターに存在するARに対する特異的配列 (ARE) に結合してターゲット遺伝子の発現を誘導する。Exon Dはhinge領域でARが細胞質から核内に移行する際に重要な配列を含んでいる。



http://www.mesomorphosis.com/articles/scally/steroid-hormone-nuclear-receptors.htm より改変

図1

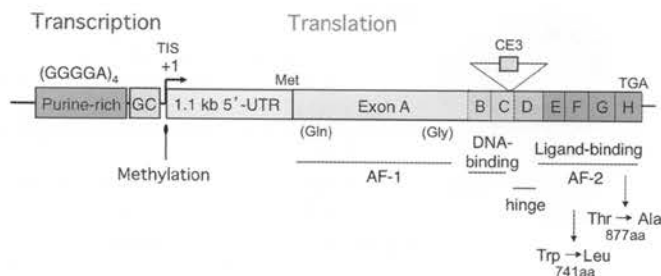


図2

さらにexon DからHまではリガンド結合領域で、リガンドが特異的に結合し、ホルモン依存的に受容体の活性化をひきおこす (AF-2)。ARはアンドロゲン非存在下ではheat shock proteinなどと結合して細胞質に存在し、通常活性を持たない。しかし、リガンドであるアンドロゲンがARに結合すると、ARは核内に移行し、AF-1やAF-2領域においてcorepressorやcoactivatorが結合し、さらにARのN末とC末も相互作用しあってターゲット遺伝子 (例えば、前立腺特異抗原PSAのプロモーター領域に結合して転写を促進したり、抑制したりする²⁾。

去勢抵抗性の機序

前立腺癌の去勢抵抗性の機序として大きく二つに分類される。(1) ARシグナルを介さない経路と、(2) ARシグナルが介在し、増殖シグナルを伝える経路に分類することができる (図3)。

(1) ARを介さない経路

a) AR発現の消失

前立腺癌の特徴は同一個人でも様々な悪性度の組織が観察されることである。中には非常に悪性度の高いものもあり、ARを発現していない前立腺癌細胞も存在している。治療前にはARを持たない、あるいはARがあっても機能していない細胞がごくわずかでも、ホルモン療法中にARを発現していないアンドロゲン非依存性細胞が徐々に増加していく可能性がある。臨床的にも悪性度の高い前立腺癌ほどheterogeneityの高い細胞集団が多い。ARプロモーターには様々な転写因子が結合してARの発現を調節しており、発現に重要な転写因子が何らかの原因でプロモーターに作用しなくなるとARの発現は減弱すると予想される。またAR転写開始点周囲のCpG領域はDNAのメチレーションを受けやすく、何らかの原因でここに過剰なメチレーションが生じるとARは発現しなくなる

(図1)。その他に5'-UTRにはAR mRNAから蛋白質に翻訳される際に必要な重要な配列が存在しており、そこに結合する翻訳関連因子も関係しているかもしれない¹⁾。

b) ARのシグナルを介さない経路

ARは存在しているが、アンドロゲンの有無に関係なく、ARの機能に関係なく、oncogeneなどの何らかの遺伝子が活性化、あるいは抑制されて前立腺癌細胞が増殖をするようになる。例えば、アポトーシスをブロックするoncogeneであるBCL-2は骨転移部位の約半数でその発現が認められており、アンドロゲンの有無と無関係に増殖が亢進する可能性がある。また、プロスタグランジン合成酵素COX-2が前立腺癌で発現が亢進すると血管新生が亢進してアンドロゲンの有無とは関係なく前立腺癌の増殖が亢進する可能性がある³⁾。

(2) ARを介する経路

a) AR変異

AR遺伝子はステロイド受容体の中で非常に突然変異の多い受容体である。1990年に初めて前立腺癌細胞LNCaPのARのligand結合領域 (LBD) 877番目のアミノ酸にThrからAlaへの変異があるのが確認された。ARは本来活性型のDHTがLBDに特異的に結合して初めて活性化される。しかし、この変異により、本来antiandrogen薬であるべきものがagonistとして作用し、前立腺癌の増殖を促進する可能性が示された⁴⁾(図1)。AntiandrogenのflutamideはこのAR変異によりagonistとして作用することがわかっている。このようなantiandrogen薬を併用して治療して再燃した場合、antiandrogen薬を除去することによってPSA、症状の改善が認められる (antiandrogen withdrawal effect AWE) ビカルタミドでも同様なAWEが約20-30%の症例で観察されている。この場合の機序としてARの741番目のTrpがLeuに変異されることで生じる

ARを中心に考えた再燃の機序

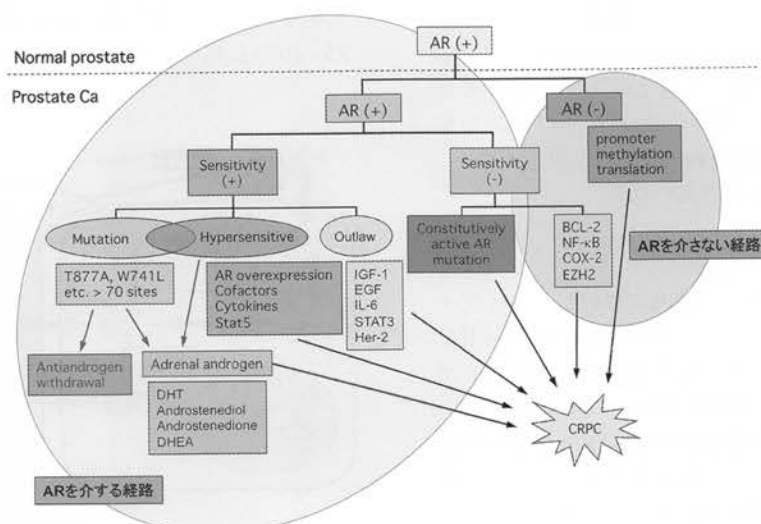


図3

ことが報告されたが(図1), 臨床的にはこの変異の頻度は1/10程度と少ないようであり, ビカルタミドによるAWEの頻度をまだ十分説明できていない。さらに, LBDに変異が生じると, LBDの特異性が失われ, antiandrogen薬だけでなく, 副腎性アンドロゲンによってもARが活性化されることもある。現在まで, 臨床的にもAR変異は再燃前立腺癌の患者の癌組織でARの様々な部位で確認されている (<http://androgendb.mcgill.ca/>)。Antiandrogen薬に対する応答性の変化だけでなく, ARの機能に影響を及ぼすmutationも報告された。hinge領域は単なるARの核内移行シグナルをコードしているだけでなく, ARのN末側とC末側のinteractionを制御している可能性がある。再燃前立腺癌の組織から見つかったhinge領域の欠失では, androgenに対する応答性は減少するものの, N末側とC末側のinteractionを増強させ, androgen-independentの活性も増強させていた。また, ARの機能が亢進する場合, たとえば, N末のAF-1領域に変異が生じると, coactivatorが結合しやすくな, androgen-hypersensitiveな状態となると予想される。最近, Exon 3のDNA結合領域直後でalternative splicingが生じ, Intron 3の中にある短いアミノ酸配列がつかがり, それ以降のligand結合領域が消失しているARが再燃前立腺癌患者で認められた (AR-V7)⁵⁾。このalternative splicingによりtruncateされたAR-V7はアンドロゲンの有無にかかわらず, ARの機能が常に亢進した状態で, 前立腺癌の増殖を促進する。このARの発現の亢進していた前立腺全摘術を行った患者の予後が不良と報告されている。最近AR-V7の発現亢進の機序としてU2AF65とASF/SF2というRNA spliceエンハンサーとその結合タンパク質の発現がCRPCにおいて亢進していることが報告された⁶⁾。

b) Androgen-hypersensitive

1) AR amplificationおよびAR蛋白質の発現の亢進

CRPCの約3割にAR gene amplificationが認められている。AR gene amplificationが生じるとAR geneから合成されるAR蛋白質も増加することが推測される。ただAR蛋白質の発現亢進はAR gene amplificationがなくても観察されている。ARの増加した前立腺癌ではホルモン療法により去勢レベルまで低下したアンドロゲンでもARが活性化され, androgen-hypersensitiveな状態となり, 前立腺癌の増殖を促進すると考えられる。

2) AR coactivatorの変化

ARがアンドロゲンと結合して核内に移行し, ターゲット遺伝子の発現を調節するためにはRNA polymerase IIなどの転写調節因子, および様々な共役因子 (cofactor) がARと相互作用し合うことが重要である。In vitroにおいてcoactivatorを癌細胞で強制発現するとARの活性が増強され, 低濃度のアンドロゲンでも反応する。ホルモン療法によってアンドロゲン濃度が低下しても何らかの機序によりcoactivatorが活性化, あるいは発現量が増加する

とARの活性が亢進する可能性がある。coactivatorであるTIF2, SRC1の発現が再燃癌で亢進しており, TIF2の発現亢進は前立腺癌の再燃までの期間を短縮させ前立腺癌の再燃と相関していた。また, CRPCではホルモン感受性のときの前立腺癌と比較してAR coactivatorであるARA55の発現の亢進が認められている⁷⁾。様々な核内受容体のcoactivatorであるp300もARの活性化にも重要な働きをしているが, 前立腺癌細胞LNCaPにおいてアンドロゲンによって発現が減弱する。逆にアンドロゲンを除去するとp300の発現が亢進する。p300の発現亢進は前立腺癌の増大, 浸潤と相関している。つまり, 長期間ホルモン療法を行っている時, p300の発現が亢進し, これらのcoactivatorの発現亢進により低濃度のアンドロゲンでもARが活性化され, 前立腺癌が再増殖する可能性を示唆している。

3) cytokineによるARの活性化

マクロファージから主に分泌されるTNF α をLNCaP細胞に長期間作用させると, 低濃度のアンドロゲンでもLNCaPの増殖が促進された。これはLNCaPがandrogen-hypersensitiveになっていることを意味する⁸⁾。周囲の環境から分泌されるcytokineによってアンドロゲン感受性が亢進し, ホルモン療法により血清中アンドロゲン濃度が減少しても, 低濃度のアンドロゲンによっても増殖が促進されるという可能性を示している。この高感受性になったLNCaPではcoactivatorのTIF2とARA55の発現の亢進が認められたことから⁹⁾, cytokineによってcoactivatorが誘導され, ARが活性化された結果, 前立腺癌細胞がandrogen-hypersensitiveとなったと考えられる。

4) 副腎性アンドロゲン, intracrineアンドロゲン合成

通常の去勢術, LH-RH agonistによるホルモン療法を行うと, 精巣からのアンドロゲンが完全に消失し, 副腎性アンドロゲンのみ残存する結果, 血清中testosteroneの濃度は治療前の1/10以下になる。ところが, Labrieらおよび著者らはneoadjuvantホルモン療法後に前立腺全摘術を行った患者の摘出前立腺内DHT濃度は治療前の25-40%も残存していることを確認した¹⁰⁾¹¹⁾。これは

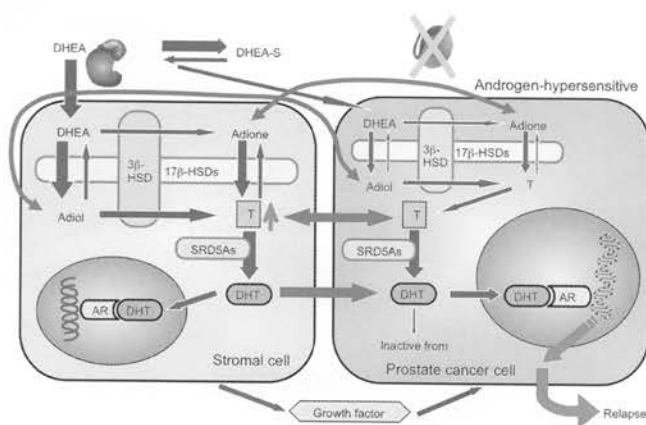


図4

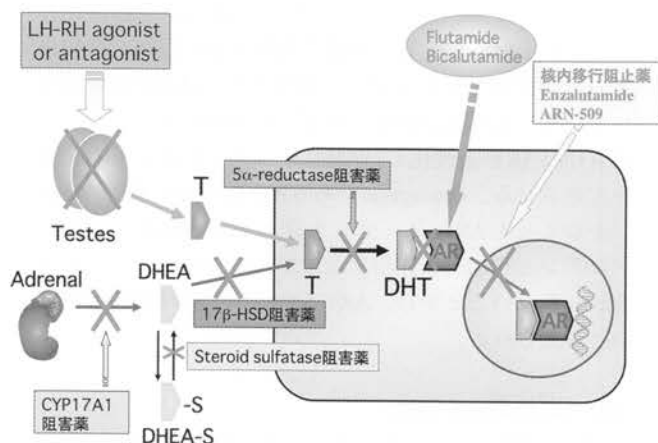


図6

の代謝産物がARを活性化する。また癌細胞がandrogen-hypersensitiveになることにより、低濃度アンドロゲンがARを活性化するため、従来のantiandrogen薬では治療不十分となる可能性がある。これらに対する対策としてAWEを確認後、antiandrogen交替療法もひとつの治療手段である¹⁴⁾。また最近第二世代のantiandrogen薬であるenzalutamide (MDV3100) も開発され、海外ではその有用性が確認されている。enzalutamideは臨床で用いられているantiandrogenのbicalutamideより約10倍ARに対する親和性が高く、かつARの核内移行も阻害する薬剤である¹⁵⁾。将来的にはenzalutamideも交替療法の一つとして有効かもしれない。本邦でも認可を待っている状態である。それでも再燃し、androgen-hypersensitiveな状態が続いている場合、副腎性アンドロゲンの合成を阻害することも効果的である。海外では、副腎性アンドロゲンDHEA合成酵素CYP17A1 (17 α -hydroxylase/C17, 20 lyase) を阻害するAbiraterone acetateが既に使用され、ドセタキセル抵抗性CRPCに対しても有効性が確認されており、これも本邦で認可を待っている状態である (図5)。さらにC17, 20 lyaseのみを選択的に阻害するorteronel (TAK-700) も開発されつつあり、将来CRPCに対する治療薬として期待されている。intracrineによる細胞内アンドロゲンの合成を阻害するため、testosteroneをDHTに変換する5 α -reductase阻害剤も有効かもしれない。これらの薬剤をcombinationで使用するのか、sequentialに使用するのか、どの順番で使用するのかなどを検討する必要がある (図6)。

おわりに

前立腺癌ではARが様々な機序により活性化されて、癌の増殖に関与する。化学療法(ドセタキセル)抵抗性となった再燃前立腺癌でさえも、まだアンドロゲンの生合成を阻害することにより増殖を抑えることのできる場合もある。すなわちARが再燃癌でもその増殖に関与していることから、ARの活性化の機序を明らかにし、それを克服することによって、真にアンドロゲン非依存性増殖を示すまでの期間を延長することができるはずである。

参考文献

- Mizokami A, Chang C. Induction of translation by the 5'-untranslated region of human androgen receptor mRNA. *The Journal of biological chemistry*. 1994; 269: 25655-9.
- Mizokami A, Gotoh A, Yamada H, Keller ET, Matsumoto T. Tumor necrosis factor-alpha represses androgen sensitivity in the LNCaP prostate cancer cell line. *The Journal of urology*. 2000; 164: 800-5.
- Fujita H, Koshida K, Keller ET et al. Cyclooxygenase-2 promotes prostate cancer progression. *Prostate*. 2002; 53: 232-40.
- Veldscholte J, Ris-Stalpers C, Kuiper GG et al. A mutation in the ligand binding domain of the androgen receptor of human LNCaP cells affects steroid binding characteristics and response to anti-androgens. *Biochem Biophys Res Commun*. 1990; 173: 534-40.
- Hu R, Dunn TA, Wei S et al. Ligand-independent androgen receptor variants derived from splicing of cryptic exons signify hormone-refractory prostate cancer. *Cancer research*. 2009; 69: 16-22.
- Liu LL, Xie N, Sun S, Plymate S, Mostaghel E, Dong X. Mechanisms of the androgen receptor splicing in prostate cancer cells. *Oncogene*. 2013.
- Fujimoto N, Miyamoto H, Mizokami A et al. Prostate cancer cells increase androgen sensitivity by increase in nuclear androgen receptor and androgen receptor coactivators; a possible mechanism of hormone-resistance of prostate cancer cells. *Cancer investigation*. 2007; 25: 32-7.
- Harada S, Keller ET, Fujimoto N et al. Long-term exposure of tumor necrosis factor alpha causes hypersensitivity to androgen and anti-androgen withdrawal phenomenon in LNCaP prostate cancer cells. *Prostate*. 2001; 46: 319-26.
- Fujimoto N, Mizokami A, Harada S, Matsumoto T. Different expression of androgen receptor coactivators in human prostate. *Urology*. 2001; 58: 289-94.
- Labrie F, Dupont A, Belanger A et al. Treatment of prostate cancer with gonadotropin-releasing hormone agonists. *Endocrine reviews*. 1986; 7: 67-74.
- Mizokami A, Koh E, Fujita H et al. The adrenal androgen androstenediol is present in prostate cancer tissue after androgen deprivation therapy and activates mutated androgen receptor. *Cancer research*. 2004; 64: 765-71.
- Mizokami A, Koh E, Izumi K et al. Prostate cancer stromal cells and LNCaP cells coordinately activate the androgen receptor through synthesis of T and DHT from DHEA. *Endocrine-related cancer*. 2009; 16: 1139-55.
- Shima T, Mizokami A, Miyagi T et al. Down-regulation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 2 by androgen deprivation induces castration-resistant prostate cancer. *Prostate*. 2012; 72: 1789-801.
- Kojima S, Suzuki H, Akakura K, Shimbo M, Ichikawa T, Ito H. Alternative antiandrogens to treat prostate cancer relapse after initial hormone therapy. *The Journal of urology*. 2004; 171: 679-83.
- Chemotherapy combination shows efficacy in hormone-refractory prostate cancer. *Oncology (Williston Park)*. 1999; 13: 1014.