

前立腺癌再燃時に関与する遺伝子の同定と遺伝子治療

著者	溝上 敦
著者別表示	Mizokami Atsushi
雑誌名	平成14(2002)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2001-2002
ページ	9p.
発行年	2003-03-01
URL	http://doi.org/10.24517/00034797



KAKEN
2002
76

金 沢 大 学

前立腺癌再燃時に関与する遺伝子の同定と遺伝子治療

研究課題番号：13671640

平成13年～14年度 科学研究費補助金（基礎研究(C)(2)）

研究成果報告書

金沢大学附属図書館



0300-02181-X

平成 15 年 3 月

研究代表者 溝 上 敦

(金沢大学医学部附属病院泌尿器科学教室助手)

□
□
□
□
□

研究課題：前立腺癌再燃時に関与する遺伝子の同定と遺伝子治療

研究組織

研究代表者 溝上 敦（金沢大学医学部附属病院泌尿器科学教室助手）

研究分担者 並木 幹夫（金沢大学医学部泌尿器科学教室教授）

越田 潔（金沢大学医学部泌尿器科学教室助教授）

研究経費

平成13年度 3100千円

平成14年度 1300千円

論文発表

Fujita, H., Koshida, K., Keller, E. T., Takahashi, Y., Yoshimoto, T., Namiki, M., and Mizokami, A. Cyclooxygenase-2 promotes prostate cancer progression, *Prostate*. 53: 232-40., 2002.

学会発表

第51回日本泌尿器科学会中部総会（2001）

前立腺癌における cyclooxygenase-2 (COX-2)の機能

金沢大学 泌尿器科

藤田 博、溝上 敦、宮城 徹、越田 潔、並木 幹夫

93th Annual Meeting of AACR (2002)

The effect of COX-2 on prostate cancer

Atsushi Mizokami, Hiroshi Fujita, Kiyoshi Koshida, and Mikio Namiki

研究成果

【方法および結果】

A) 再燃前立腺癌細胞株の樹立

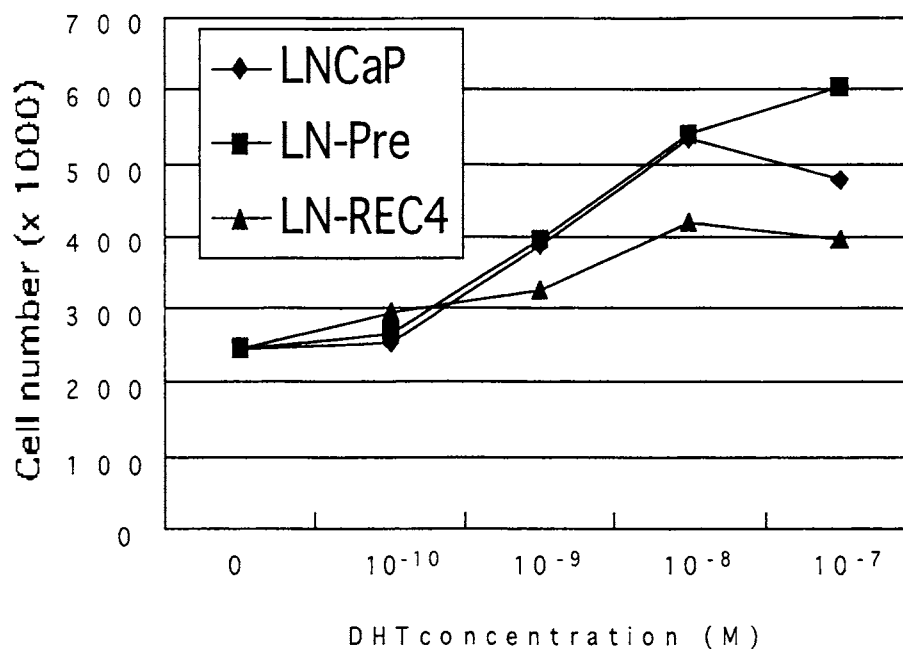
1. 5週齢SCID mouse背部皮下両側に前立腺癌細胞株LNCaP 1.0×10^6 を50% matrigelとともにそれぞれinoculate。
2. 腫瘍が増大したmouseから一方の腫瘍を摘出し、subline化した(LN-Pre)。
3. その後、mouseをcastrationし、そのなかで再び増大した腫瘍を摘出し、新たなsublineを樹立した(LN-REC0)。
4. LN-REC0をcastrationしたSCID mouseにinoculate。
5. 増大した腫瘍を摘出し、低アンドロゲン環境下においても腫瘍増殖を認める新しい前立腺癌細胞株(LN-REC4)を樹立した。
6. また、LNCaPをDMEM + 5% CCSにて6ヶ月間、in vitroにて継代培養することで、もう一つの新しい前立腺癌細胞株(LNCaP-SF)を樹立した。

B) アンドロゲン感受性の検討 (in vitro)

1. LN-PRE, LN-REC4, LNCaP-SF を 1.0×10^5 を 6 well シャーレにまいた。
2. 各 cell line について、DHT 0, 10^{-10} , 10^{-9} , 10^{-8} , 10^{-7} M の 3 well ずつ 5 群にわけ、DMEM-5% CCS にてそれぞれの濃度で培養した。
3. 2 日後に medium change, 4 日後に cell count し、DHT の濃度と細胞増殖の関係について検討した。
4. その結果、LNCaP と LN-Pre の増殖においてとの間に DHT に対する感受性に違いは認められなかったが、LN-Pre と LN-REC3 との間には明かな感受性

の差を認め、LN-REC4 ではDHT に対する応答性が減弱していた (Fig. 1)。

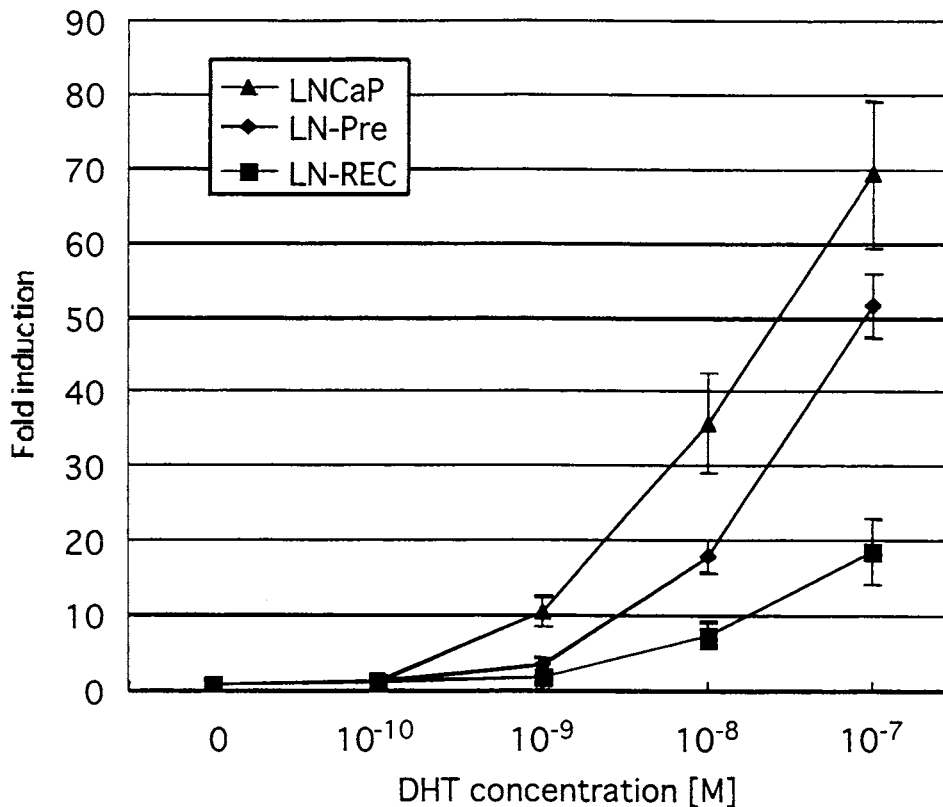
Fig.1 Effect of DHT on cell growth



C) アンドロゲン・ターゲット遺伝子への応答性の検討 (in vitro)

1. LNCaP, LN-Pre, LN-REC4を 1.0×10^5 を6 wellシャーレにまいた。
2. 24時間DMEM-5% CCSで培養した。
3. 5.8 kb PSA promoterの下流にluciferase遺伝子をもつreporter plasmidをそれぞれの細胞にtransfectした。
4. 遺伝子導入24時間後に様々な濃度のDHTを添加し、さらに24時間培養後、ルシフェラーゼ活性を測定した。
5. LN-REC4はLNCaP, LN-Preと比較し、明らかにDHTに対する応答性が減弱していた (Fig. 2)。

Fig. 2 PSA promoterに対するDHTの影響



D) 各cell lineの腫瘍増殖(in vivo)

1. 5週齢SCID mouseをcastrationし、4群にわけ、背部皮下にLNCaP, LN-Pre, LN-REC4, LNCaP-SFをそれぞれ 2.0×10^6 を50% matrigelとともに inoculateした (Fig. 3a and 3b)。
2. LN-REC4, LNCaP-SFはcastrationされたマウスでも造腫瘍能は亢進していた。
3. 6日おきに血液を採取し、マーケットMPAキットを用いて、血中PSAの変化について検討した (Fig. 4)。
4. LN-REC4, LNCaP-SFはcastrationした状態でも腫瘍の増大とともに血清中PSAの濃度が高値となり、再燃前立腺癌の状況を反映していると考えられた。

Fig. 3a Tumorigenesis in SCID mice

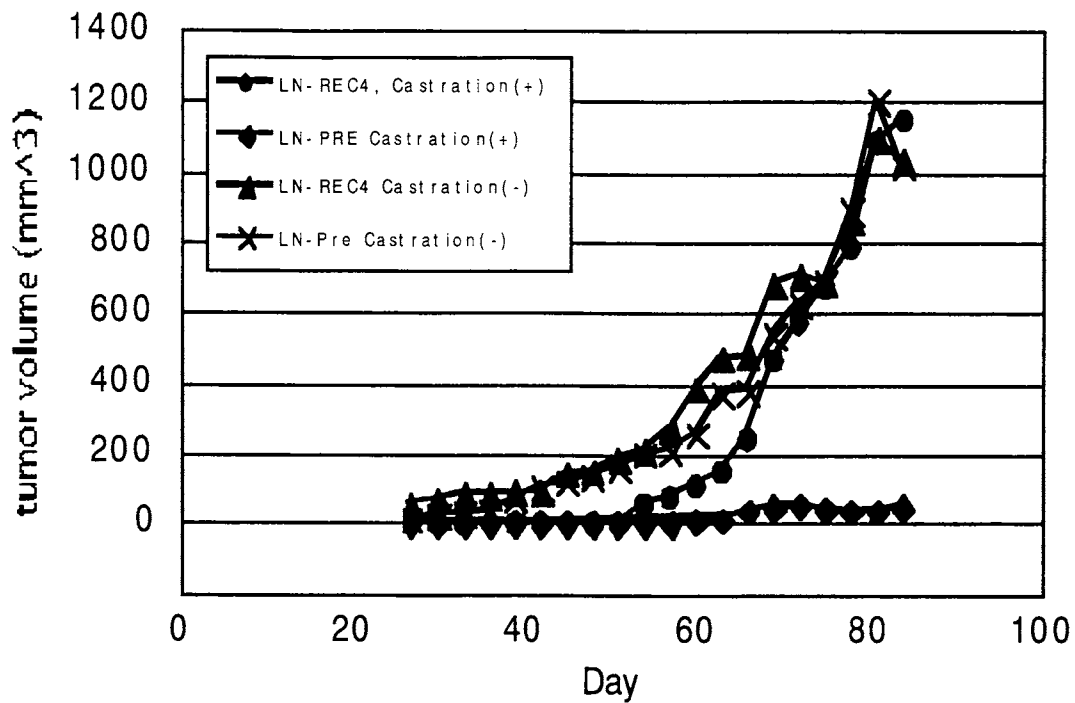


Fig. 3b Tumorigenesis in SCID mice

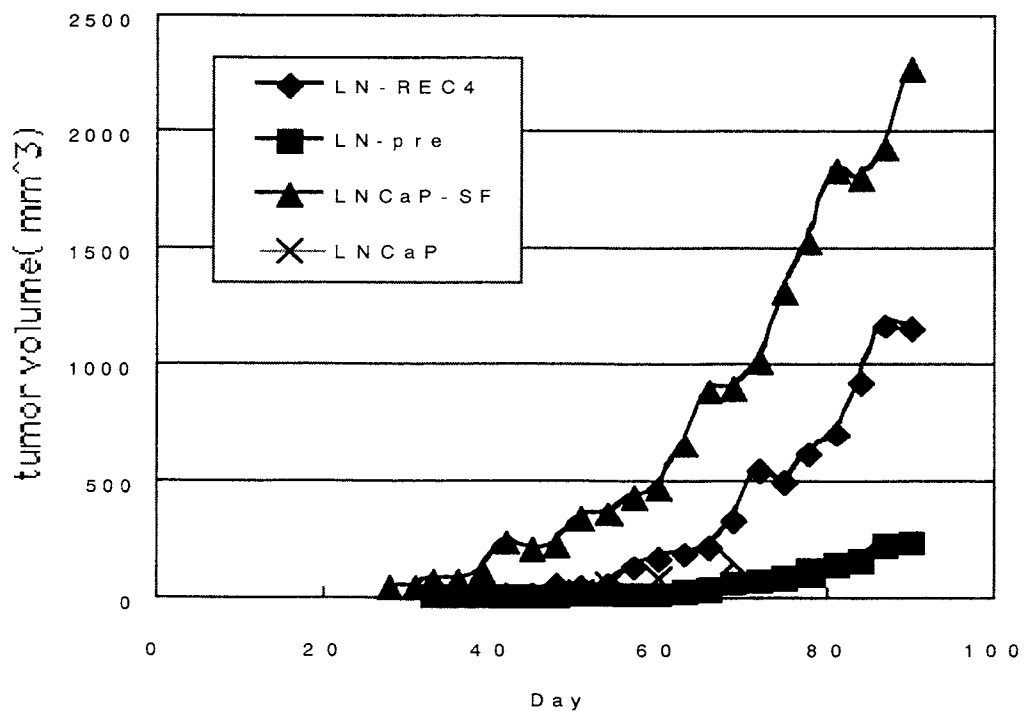
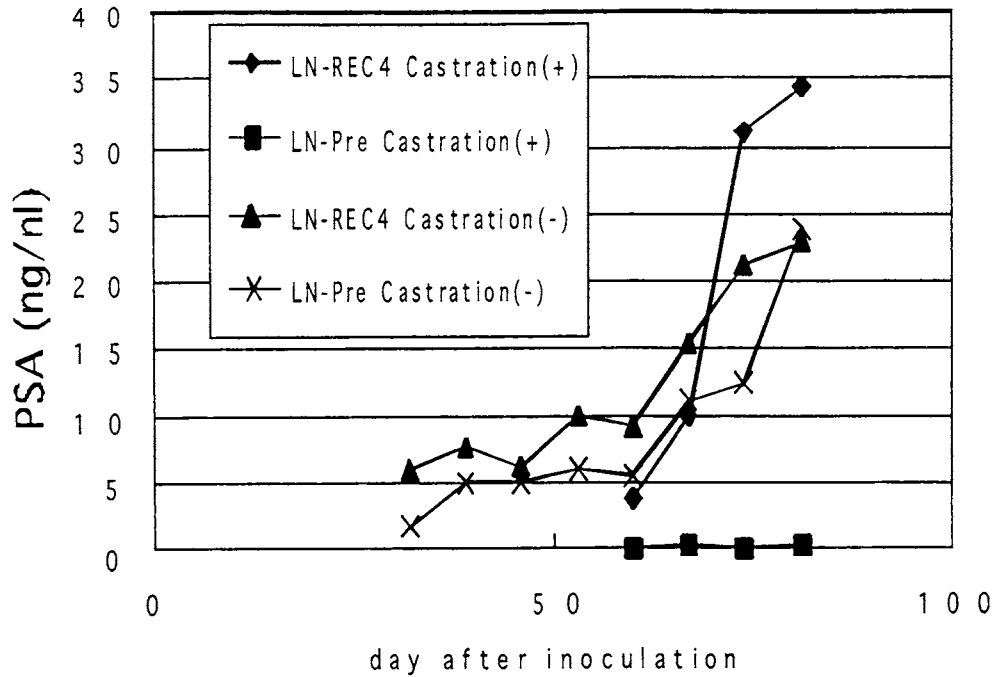


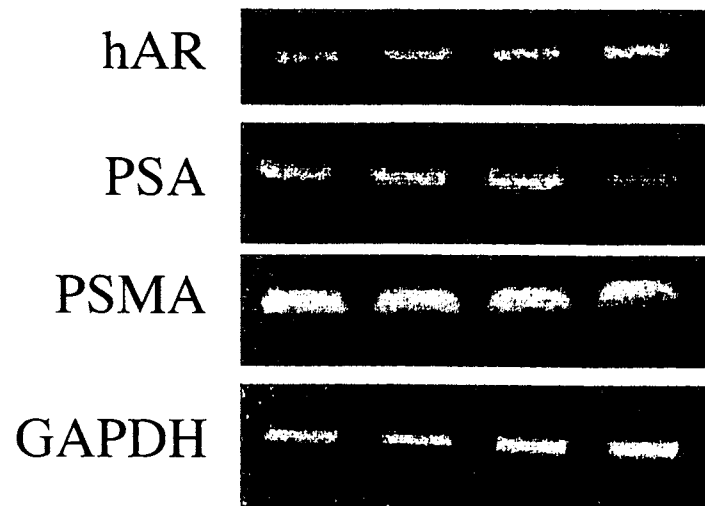
Fig. 4 PSA secretion in vivo



E) 各cell lineのいくつかの遺伝子のmRNA発現レベル

1. 各cell line (LNCaP, LN-Pre, LN-REC4, LNCaP-SF)よりtotal RNAを抽出。
2. RT-PCRにてGAPDH, androgen receptor, PSA, PSMAの発現量を比較した。
3. これらの遺伝子には明かな有意差は認められなかった。(Fig.5)

Fig. 5 Expression of several mRNA



以上のように我々はandrogen receptorの発現量が変わらないにもかかわらず、明らかにアンドロゲンに対する応答性が異なり、アンドロゲン非存在下でもマウスで増殖しうる細胞を樹立した。

F) 前立腺癌の増殖にかかわる遺伝子の同定

次論文参照（論文1）