

対象研究テーマ： がん幹細胞を標的とした薬剤スクリーニング法の開発に関する研究

研究期間：2012年4月1日～2013年3月31日

研究題目：輸送体を利用したがん幹細胞標的化戦略の基盤構築

研究代表者：金沢大学医薬保健研究域薬学系 准教授 中西猛夫

研究成果の概要：DHEAS を基質として輸送する有機アニオントランスポーター (OATP)がアンドロゲン枯渇下の前立腺癌細胞増殖において果たす役割を明らかにすることを目的として検討をした。アンドロゲン枯渇下で培養されたヒトアンドロゲン受容体陽性前立腺癌細胞 LNCaP や 22Rv1 細胞において、OATP1A2 の発現が顕著に増大した。発現が増大した OATP1A2 によりアンドロゲン枯渇下では血中濃度が変動しない DHEAS (不活性型) が細胞へ取り込まれ、細胞内の steroid sulfatase により DHEA や DHT などアンドロゲン (活性型) へ代謝されて利用され、アンドロゲン枯渇下でもその細胞増殖能が維持されることが初めて明らかになった。本研究成果は前立腺癌の CRPC への進行において、OATP がアンドロゲンの前駆体として DHEAS の供給に寄与し、細胞増殖に維持する役割を担うと考えられた。

研究分野：化学療法、輸送体 (トランスポーター)

キーワード：前立腺癌、有機アニオン輸送体、OATP 1 A2、アンドロゲン

1. 研究開始当初の背景

がん幹細胞は腫瘍形成、細胞増殖、浸潤・転移に重要な役割を果たすため、がん幹細胞を治療標的とした化学療法の開発は急務である。近年、慢性骨髄性白血病由来幹細胞様細胞に有機カチオンを輸送する分子 (Organic Cation Transporter) の高い発現が基質薬物であるイマチニブに対する感受性を増大させることや、未分化性維持に重要な転写因子の異状発現により腫瘍組織のエネルギー代謝が活性化されアミノ酸輸送体を介したエネルギー源の供給が盛んになるなど、がん幹細胞の生命維持機構と輸送体との興味深い発見がなされている。

2. 研究の目的

がん幹細胞特異的に発現する輸送体の機能調節やそれを利用した薬物送達法の開発は、がん幹細胞標的化の有効な手段となり得る。したがって、がん幹細胞特異的に発現し栄養輸送などその生命維持および分化に関わる輸送体遺伝子の同定と腫瘍形成における役割の解明は、輸送体を標的分子とした新しい化学療法の基盤構築に有益な知見を与える。そこで、本研究では、ヒト前立腺癌由来細胞におけるホルモン輸送体の発現と去勢抵抗性細胞増殖について検討を行った。

3. 研究の方法

去勢抵抗性前立腺癌モデルとしてアンドロゲン受容体陽性 LNCaP および 22Rv1 細胞を用い、アンドロゲン枯渇条件下での細胞増殖と水溶性不活型 DHEA 硫酸抱合体ホルモン (dehydroepiandrosterone sulfate、以下 DHEAS) を輸送する有機アニオン輸送体 (OAT および OATP) の発現変動との関係について、1) アンドロゲン枯渇が DHEAS 輸送体発現に与える影響 (qRT-PCR 法および Western blotting 法)、2) アンドロゲン枯渇下における細胞増殖に対する DHEAS の効果、3) OATP1A2 分子発現抑制 LNCaP 細胞の作製と増殖能、を検討し去勢抵抗性と輸送体との関係について考察した。

4. 研究成果

ヒト前立腺癌細胞を用いて検討を行った。DHEASによる細胞増殖促が観察され、この効果はDHEASを活性型アンドロゲンであるDHEAへと変換するsteroid sulfatase 阻害剤によって消失した。また、OATPのmRNA発現をqRT-PCRやWestern Blottingによって検討した結果、アンドロゲン枯渇下で、OATP1A2をはじめとする複数のOATP分子の発現上昇が観察された。さらに、 $[^3\text{H}]$ DHEASの細胞内取り込みは、アンドロゲン枯渇下で培養することで増加した。以上より、LNCaP細胞はアンドロゲン枯渇下でOATP輸送体増加により、DHEAS取り込みが増加することが明らかに

なった。さらに、LNCaP細胞におけるOATP1A2の発現を安定的に抑制するOATP1A2/KD細胞において、アンドロゲン枯渇下における細胞増殖に対するDHEASの効果が消失したことから、OATP1A2が細胞増殖に重要な役割を果たすことが証明された。現在、アンドロゲン受容体陽性前立腺癌細胞における本輸送体の発現転写制御機構およびアンドロゲン枯渇下における前立腺癌細胞のクローン選択における役割を鋭意解明中である。OATP1A2に関する研究は、去勢抵抗性前立腺癌治療に有益な化学療法の創製に資すると期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計1件)

1) Arakawa H, Nakanishi T, Yanagihara C, Nishimoto T, Wakayama T, Mizokami A, Namiki M, Kawai K, Tamai I. Enhanced expression of organic anion transporting polypeptides (OATPs) in androgen receptor-positive prostate cancer cells: possible role of OATP1A2 in adaptive cell growth under androgen-depleted conditions. *Biochem Pharmacol*, **84**(8):1070-1077, 2012.

[学会発表] (計2件)

1) 西本朋弘、中西猛夫、柳原千泰、荒川大、玉井郁巳.
前立腺癌細胞におけるトランスポーターを介したアンドロゲン供給調節機構の解明、日本薬剤学会第27年会、2012年5月24-26日、神戸国際会議場(神戸)。

2) 中西猛夫
新しい化学療法を目指したがん細胞における輸送体の機能特性と発現調節に関する研究、日本薬物動態学会第27年会奨励賞受賞講演、2012年11月20-22日、タワーホール船堀(千葉)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

金沢大学医薬保健研究域薬学系・准教授
中西猛夫

(2) 研究分担者

金沢大学医薬保健研究域薬学系・教授
玉井郁巳

(3) 本研究所担当者

遺伝子・染色体構築・教授 平尾 敦