PP-248 新たながん治療に向けたアンドロゲン非依存性前立腺癌の HVJ-E 感受性機構の研究

大阪大学大学院医学系研究科泌尿器科¹⁾, 大阪大学大学院医学系研究科遺伝子治療学²⁾, 大阪府立成人病センター研究所免疫学部門³⁾

波多野 浩士^{1,2)}, 中井 康友¹⁾, 宮本 泰豪³⁾, 金田 安史²⁾, 野々村 祝夫¹⁾

不活化センダイウイルス (hemagglutinating virus of Japan envelope; HVJ-E) はアンドロゲン非依存性ヒト前立腺癌細胞株 PC3, DU145 に投与するとアポトーシスを誘導するが、アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株 LNCap、正常前立腺上皮 PNT2 に対してはアポトーシスを誘導しない。PC3 細胞に HVJ-E を投与すると RIG-I (retinoic acid-inducible gene-I) が活性化し、1 型インターフェロン (IFN) が誘導される。誘導された 1 型 IFN は JAK-STAT 経路を介して caspase 8 を活性化し、caspase 3 の活性化によりアポトーシスを誘導する。PC3 細胞の SCID マウス腫瘍モデルにおいても HVJ-E 直接投与により著明な腫瘍縮小効果を認めた。一方、LNCap、PNT2 と比較して PC3, DU145 は HVJ-E のレセプターであるガングリオシド GD1a、SPG (Sialyl paragloboside) が高発現しており、HVJ-E は LNCap、PNT2 には低親和性であるが、PC3, DU145 に対して高親和性を示した。今回われわれはアンドロゲン非依存性前立腺癌においてガングリオシド GD1a、SPG の合成に関与する糖転移酵素の転写制御について検討したので報告する。

PP-249 前立腺癌細胞株における放射線による miRNA の発現変化

富山大学大学院医学薬学研究部腎泌尿器科学講座¹⁾, 富山大学大学院医学薬学研究部放射線基礎医学講座²⁾

森井 章裕¹⁾, 渡部 明彦¹⁾, 小川 良平²⁾, 近藤 隆²⁾, 布施 秀樹¹⁾
【目的】前立腺癌細胞株における放射線による miRNA の発現変化を調べ、放射線に対する応答への関わりについて検討する。【対象および方法】細胞は前立腺癌細胞株 LNCaP を用いた。細胞に放射線を照射し、4 時間培養後に細胞を回収し、全 RNA を抽出して精製を行った。これをもとに合成した cDNA を miRNA 用のマイクロアレイで、発現変化を網羅的に調べた。変化の大きな miRNA を選択し、real-time PCR により発現変化の確認を行った。変化が見られた miRNA の標的となりうる遺伝子を miRNA のデータベースを利用して検索した。【結果】マイクロアレイによる網羅的解析により、LNCaP において放射線刺激による miRNA の発現変化を認めた。10% 以上発現量が変化した miRNA の数は、5 Gy 照射で 68 個 (このうち発現増加したもの 47 個、減少したもの 21 個)、10 Gy 照射では 66 個 (このうち発現増加したもの 31 個、減少したもの 35 個) であった。放射線により発現が増加した miRNA のうち、miR-1280 と miR-29b-2*, 減少した miRNA のうち miR-19b と miR-193a-5 p を選択し、real-time PCR によりそれぞれの発現の経時変化を調べたところ、マイクロアレイの結果と同様の変化が確認された。

PP-250 ヒト前立腺癌細胞および間質細胞に対するフェニルピペラジン誘導体の細胞周期阻害作用

三重大学大学院医学系研究科腎泌尿器外科学¹⁾, 三重大学大学院地域イノベーション学研究所²⁾

石井 健一郎^{1,2)}, 堀 靖英¹⁾, 岩本 陽一¹⁾, 西川 晃平¹⁾, 加藤 学¹⁾, 神田 英輝¹⁾, 有馬 公伸¹⁾, 杉村 芳樹¹⁾

【目的】再燃前立腺癌を克服するために、ホルモン依存性が喪失した癌細胞が置かれている環境、すなわち癌の微小環境を考慮することが重要である。今回、我々は癌細胞の増殖をサポートする間質細胞の役割にも着目し、フェニルピペラジン誘導体による増殖抑制メカニズムを検討した。【方法】アンドロゲン低感受性 E9 細胞は、アンドロゲン感受性 LNCaP 細胞を限界希釈し、単離した。アンドロゲン不応性 AIDL 細胞は、LNCaP 細胞を血清中ホルモン除去下で培養することにより樹立した。ヒト前立腺間質細胞 PrSC と PrSMC は Lonza 社から購入して用いた。【結果】ナフトビジルと RS100329 は癌細胞が有するアンドロゲン感受性に関係なく増殖を抑制した。また、ナフトビジルと RS100329 は間質細胞の増殖も抑制したが、その作用はナフトビジルの方が強かった。ナフトビジルと RS100329 は癌細胞と間質細胞のどちらにおいても G1 cell cycle arrest を誘導した。ナフトビジルの経口投与で E9+PrSC の in vivo 腫瘍形成は有意に抑制された。【結論】ナフトビジルは癌細胞だけでなく間質細胞に対しても強い細胞周期阻害作用を示したことから、癌-間質の相互作用を効率的に阻害し、再燃前立腺癌の進行を妨げる可能性が示唆された。

PP-251 正常前立腺上皮細胞の増殖抑制及び腺構造形成・維持における Dickkopf-3 の生物学的意義

熊本大学大学院生命科学研究部泌尿器病態学¹⁾, インペリアルカレッジ²⁾, ドイツ癌研究センター³⁾

河野 吉昭^{1,2)}, Nicole Maltry³⁾, Marjorie Walker²⁾, 和田 孝浩¹⁾, 高橋 渡¹⁾, 江藤 正俊¹⁾, Jonathan Waxman²⁾, Christof Niehrs³⁾, Robert Kypta²⁾

Dickkopf-3 (Dkk-3) は tumour suppressor として知られているが、その機能の詳細並びに正常前立腺上皮における生理的役割は未だ不明である。今回我々は、正常前立腺上皮における Dkk-3 の生物学的機能及びその発現低下による前立腺癌進展の機序を検討するために、正常前立腺上皮細胞由来である RWPE-1 細胞の Dkk-3 miR-shRNA 定常発現株を樹立し (RWPE-1/D3-sh)、マトリゲルを用いた 3 次元培養上での増殖能並びに腺房様構造形成能の評価を行った。non-targeting miR-shRNA 導入細胞 (RWPE-1/NS-sh) と比較して、RWPE-1/D3-sh 細胞は二次元培養下における増殖能の明らかな違いを認めなかったが、3 次元培養下では増殖能が著明に亢進していた。また RWPE-1/NS-sh 細胞は 3 次元培養下において腺房様構造の形成を認めたが、RWPE-1/D3-sh 細胞では培養開始後 7 日目より同構造の破綻を認めた。以上の結果から、Dkk-3 は正常前立腺において上皮細胞分裂休止と腺構造維持に必要であり、その発現低下は細胞増殖及び腺構造の異常を介して癌進展に関与することが示唆された。

PP-252 前立腺神経内分泌細胞による前立腺癌の gelsolin を介する進展機構の解明

札幌医科大学医学部泌尿器科学

橋本 浩平, 舩森 直哉, 田中 俊明, 北村 寛, 塚本 泰司

【目的】我々は以前に神経内分泌細胞から分泌される神経内分泌因子 (NE 因子) が、前立腺癌の進展を促進させている可能性を報告し、前立腺癌における強発現を示す分子として gelsolin を同定した。本検討では前立腺神経内分泌細胞による前立腺癌の gelsolin を介する進展機構を明らかにする。【方法】我々が樹立したマウス前立腺神経内分泌細胞株 NE-CS およびヒト前立腺癌細胞株 LNCaP を使用した。浸潤能変化は matrigel invasion assay を行い、RNA 干渉法により gelsolin 遺伝子をノックダウンした LN-siGel 細胞株とコントロール LN-siCont を使用した。【結果】EGF 添加 0.1% BSA 含有 RPMI で培養した NE-CS 培養上清で LNCaP を培養すると gelsolin の発現が亢進した。浸潤能変化について上室に LN-siCont、LN-siGel を入れ 24 時間後の invasion index (Ix: 浸潤した細胞数/1000 個) を評価した。下室に EGF を添加しない場合、NE-CS 存在下の有無に関わらず LN-siCont と LN-siGel 間で Ix に差を認めず、EGF を添加した場合も NE-CS 非存在下では同様であった。一方で NE-CS 存在下では LN-siCont の浸潤能は亢進したが、LN-siGel でその亢進は抑制された (26.61 vs. 15.14, p<0.001)。【結語】前立腺癌の進展機構について、EGF の刺激で神経内分泌細胞から分泌された NE 因子によって、gelsolin を介する浸潤能亢進が誘導されると思われる。

PP-253 サリドマイド投与前後における発現遺伝子群の変化—docetaxel 耐性 PC3 細胞株を用いた基礎的検討—

島根大学医学部泌尿器科

平木 美穂, 安本 博晃, 椎名 浩昭, 有地 直子, 三井 要造, 井上 圭太, 小原 千明, 平岡 毅郎, 和気 功治, 洲村 正裕, 本田 聡, 井川 幹夫

【目的】Docetaxel (D) に抵抗性を示す内分泌療法抵抗性前立腺癌 (HRPC) に対する化学療法剤としてサリドマイド (T) の有用性が期待されている。今回、docetaxel 抵抗性 HRPC に対するサリドマイド併用化学療法の基礎的検討においてアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 (PC3) を用いて評価した。

【対象と方法】Docetaxel 耐性 PC3 細胞株 (DR-PC3) は、docetaxel 1nM を培養液に添加し、11 nM で安定して増殖する PC3 細胞を得た時点で耐性獲得とした。細胞増殖活性は得られた DR-PC3 細胞株に 150µM サリドマイドを添加し評価した。Total RNA を cDNA に逆転写後、cDNA microarray を用いて DR-PC3 株とサリドマイド投与後の DR-PC3 細胞株での発現遺伝子群の変化を Gene Ontology 解析により評価した。

【結果】DR-PC3 細胞株で 4 倍以上発現が亢進した統計学的有意性の高い遺伝子群は血管新生やケモカイン活性に関連しており、サリドマイド投与後の DR-PC3 細胞株で発現が 6 倍以上低下した遺伝子群は、細胞接着に関連していた。DR-PC3 細胞株で発現が亢進し、サリドマイド投与後に発現が低下する遺伝子群として、S100 遺伝子群、SDR family 遺伝子群、CSPG 遺伝子群が同定された。

【結語】今回の cDNA microarray 解析結果からサリドマイド併用化学療法の効果を予測する上で重要な biomarker の同定が可能と思われる。