

平成23年4月11日
筑波大学

再発した前立腺癌の増殖を制御する新たな分子メカニズムの発見 乳癌治療薬が効果的

発表者 筑波大学 生命領域学際研究センター 教授 柳澤 純

◇ポイント◇

- 女性ホルモンが制御する新たな前立腺癌の増殖・細胞死メカニズムを発見
- 女性ホルモン及び女性ホルモン抑制剤は、ER β 及びKLF5を通じFOXO1の発現量を変化させることで前立腺癌の増殖・細胞死を直接制御している
- 前立腺癌の増殖抑制には、FOXO1の発現量を増加させる女性ホルモン抑制剤フルベストラント(乳癌治療薬)が有効
- 前立腺癌組織中のER β 、KLF5の発現量とFOXO1の発現量及び癌発症後の生存率の相関を発見

筑波大学大学院生命環境科学研究科の研究グループ(柳澤 純教授、仲島由佳助教)は、東京大学大学院医学系研究科 井上聡特任教授との共同研究により、女性ホルモン抑制剤による前立腺癌の進行制御メカニズムを解明しました。今回の発見により、初期及び再燃性前立腺癌に対する副作用の少ない新たな治療薬の開発につながる可能性が期待できます。

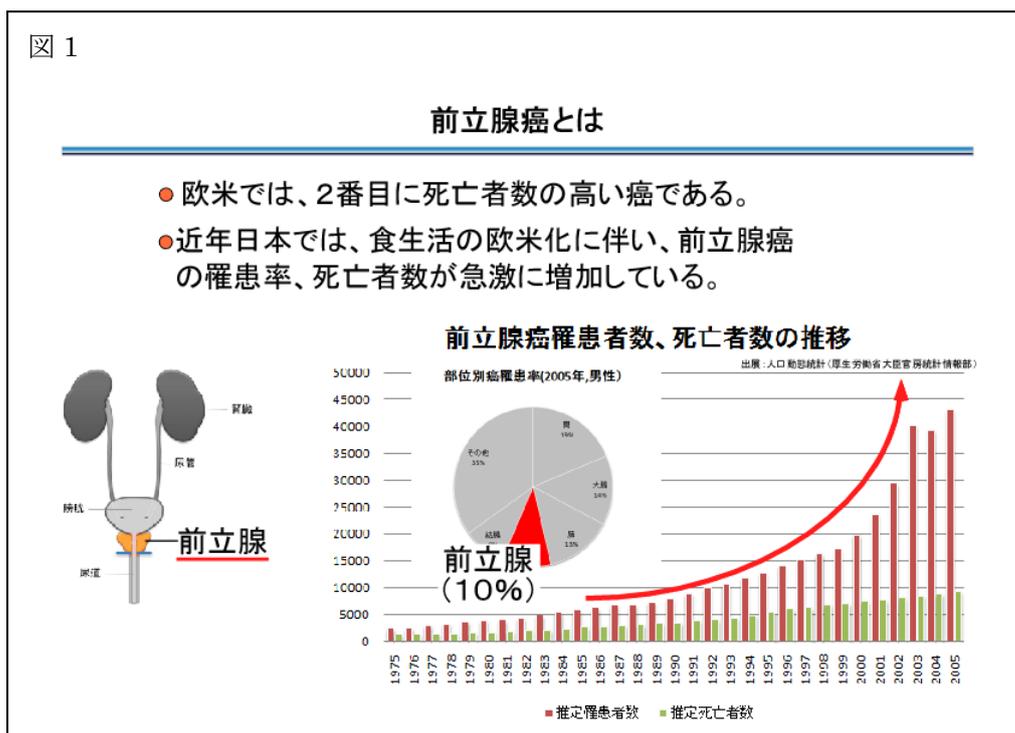
前立腺癌は男性特有の癌で男性ホルモン(アンドロゲン)の影響で病気が進行します。そのため、治療の第一段階ではアンドロゲン経路の遮断を目的としたホルモン治療が有効です。ホルモン療法では、体内アンドロゲン濃度の低下を目的に女性ホルモン(エストロゲン)剤が使用されることもあります。しかし、女性ホルモン剤投与も含め、ホルモン治療の効果は数年のうちに失われ、癌が再び活発に増殖するホルモン抵抗性再燃前立腺癌へと進行していきます。この再燃した癌に対する有効な手立てはあまりありません。

研究チームは、女性ホルモン抑制剤が再燃性前立腺癌に有効だという臨床試験知見に着目し、その分子機構をアンドロゲン不応性の前立腺癌細胞及びマウスを用いて調査しました。その結果、女性ホルモン及び女性ホルモン抑制剤が転写因子ER β と前立腺癌抑制転写因子KLF5を介して下流遺伝子FOXO1の発現量を調節していることを突き止めました。さらに、女性ホルモン抑制剤の中でも乳癌治療薬として開発されたフルベストラント(ICI182,780)がFOXO1の発現量を増加させ、前立腺癌の細胞死(アポトーシス)を誘導すること、その結果として癌細胞に特有の足場非依存性増殖(アノイキス)の抑制に有効なことを発見しました。今回の発見により、再燃性前立腺癌に対する副作用の少ない新たな治療薬の開発につながる可能性が期待できます。本研究成果は Science Signaling 誌4月12日付に掲載されました。

なお、本研究の一部は、文部科学省「ターゲットタンパク研究プログラム」及び「革新的細胞解析研究プログラム(セルイノベーション)」としておこなわれました。

1. 背景

前立腺癌は男性特有の癌で、米国においては癌死亡者数の第2位(約20%)を占めています。日本でも前立腺癌の罹患率・死亡者数は急激に上昇しており、現在は重篤な男性悪性腫瘍疾患の1つとなっています。【図1】

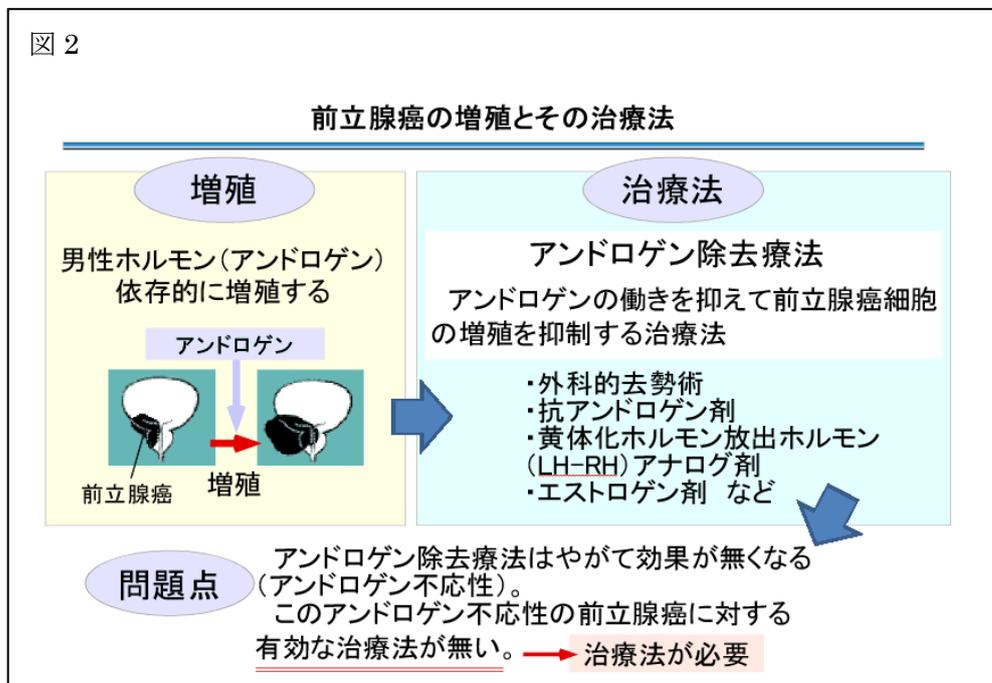


初期段階の前立腺癌は男性ホルモン(アンドロゲン)に反応し増殖します。そのため、治療の第一段階では抗アンドロゲン剤の投与によるアンドロゲン経路の遮断が効果的です(アンドロゲン除去療法)。女性ホルモン(エストロゲン)は体内アンドロゲン濃度を低下させることから、アンドロゲン経路遮断に女性ホルモン剤が使用されることもあります。しかし、女性ホルモン剤投与も含めアンドロゲン経路遮断効果は数年のうちに薄れ、再び活発に増殖するホルモン抵抗性再燃前立腺癌(アンドロゲン不応性前立腺癌)へと進行していきます。現時点では、再燃性前立腺癌に対する有効な治療方法は少なく、新たな治療薬の開発が待ち望まれています。

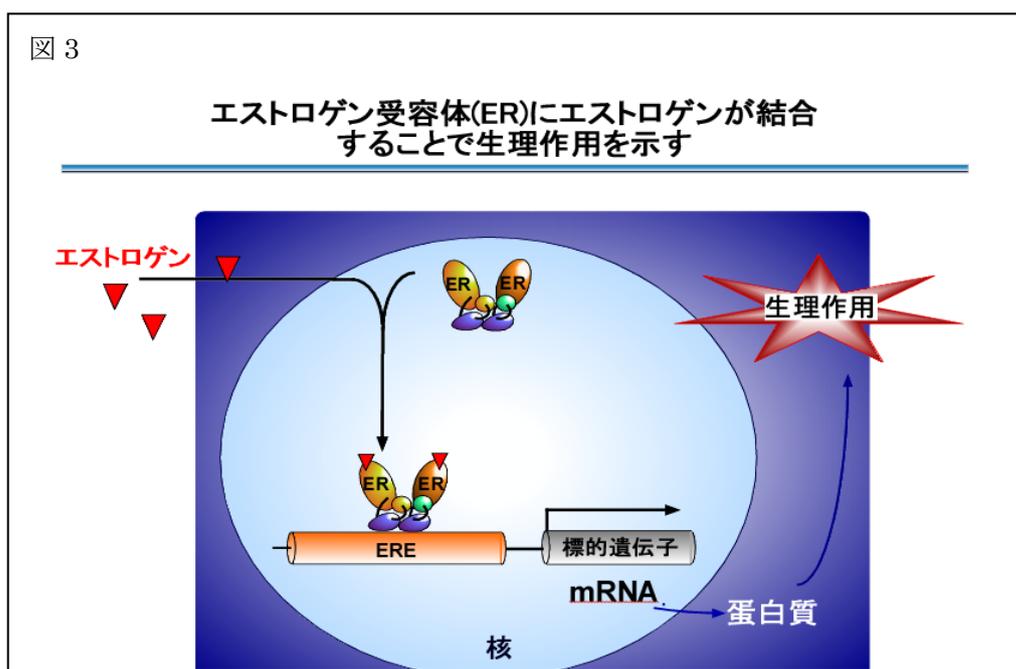
【図2】

近年、女性ホルモン抑制剤がホルモン抵抗性再燃前立腺癌の進行を抑制するという臨床学的な知見が見出され注目を集めています。女性ホルモン抑制剤とは乳癌・子宮癌の治療薬として開発された女性ホルモン(エストロゲン)の働きを阻害する薬剤です。エストロゲンは、エストロゲンに直接結合する転写制御因子エストロゲンレセプター(ER α 及びER

β) を通じ下流の遺伝子発現を制御することで生理作用を発揮しています。【図3】女性ホルモン抑制剤は、エストロゲンと競合して $ER\alpha$ 又は $ER\beta$ に結合し、エストロゲンの作用を阻害します。



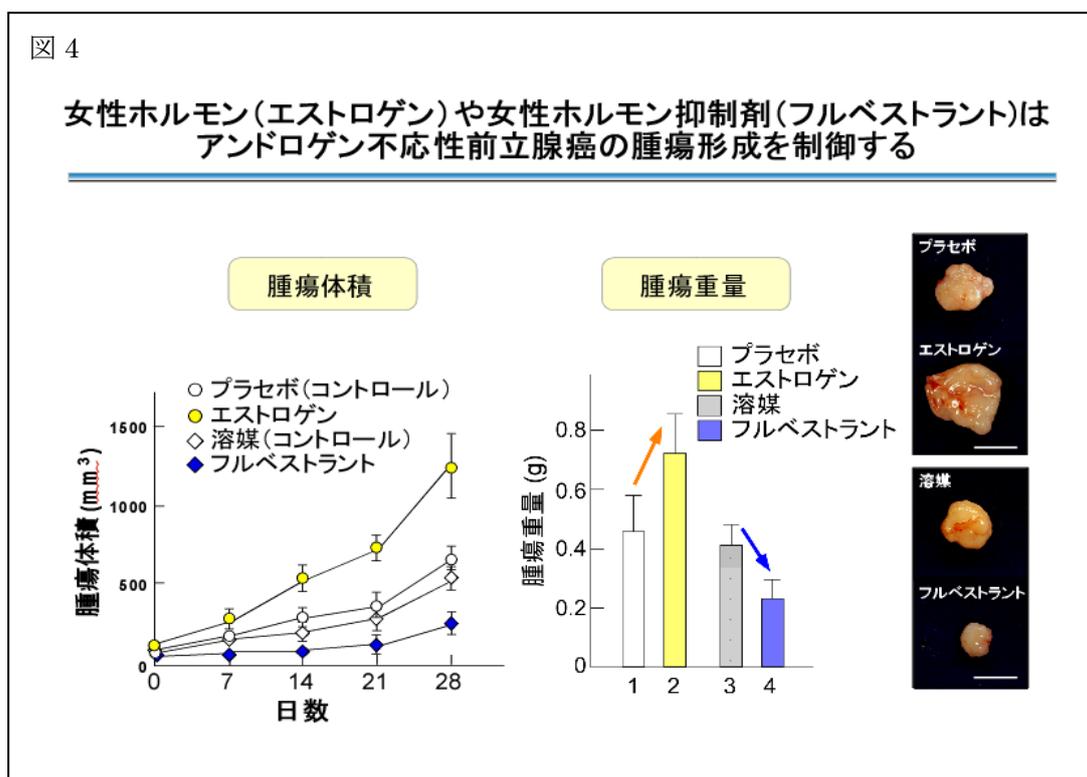
$ER\beta$ は男性特有の臓器である前立腺の上皮細胞に発現し形態形成に関与していることが知られています。しかし、乳癌や子宮癌の治療薬として開発された女性ホルモン抑制剤がどのように前立腺癌の進行を抑制しているのか、その詳細なメカニズムは不明なままでした。



2. 研究手法と成果

(1) 女性ホルモン（エストロゲン）や女性ホルモン抑制剤（フルベストラント）はアンドロゲン不応性前立腺癌の腫瘍形成を制御する

研究グループは、再燃性前立腺癌に対する女性ホルモン抑制剤の効果を明らかにするため、アンドロゲン不応性の前立腺癌細胞を移植したマウスに2種類のERリガンド[エストロゲン、女性ホルモン抑制剤フルベストラント（ICI 182,780（ICI））]を投与し腫瘍の発達度を比較しました。一般に正常細胞は浮遊状態では増殖せず細胞死（アノイキス）を引き起こしますが、癌細胞ではこの足場非依存的な細胞死は抑制されています。ICIを投与したマウスでは細胞死が誘導され移植した前立腺癌が退縮していました。一方でエストロゲンを投与したマウスではアノイキス誘導率が減少しており、前立腺癌の増殖が増大していました。【図4】これらの薬剤の効果はER β 遺伝子の発現を抑制すると消失しました。これらの結果より、ERリガンドによる前立腺癌に対する異なる効果は、どちらもER β を介して発揮されていることが分かりました。



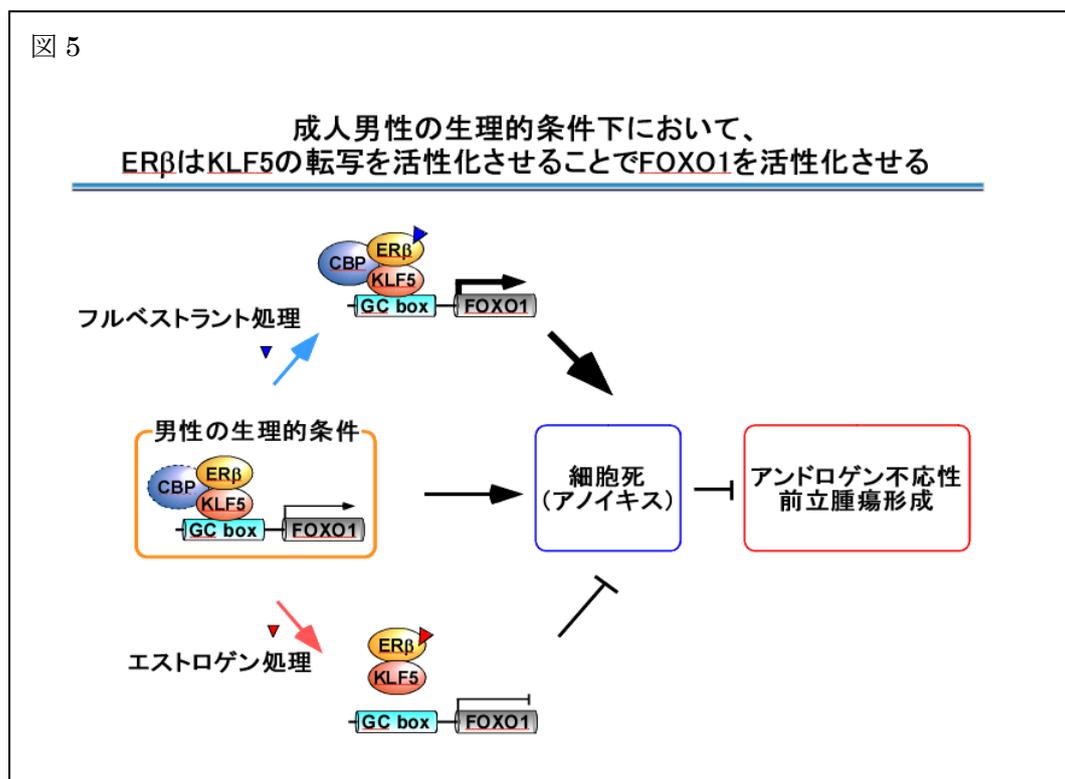
(2) 女性ホルモン及び女性ホルモン抑制剤はER β 、KLF5を介しFOXO1の発現量を変化させることで再発した前立腺癌の増殖・細胞死を制御している

次に研究グループはこの作用機序に関わる因子の決定を試み、ER β に結合する因子を検索しました。その結果、前立腺癌抑制遺伝子として知られている転写因子KLF5を見出しました。KLF5遺伝子の発現を抑制するとICI、エストロゲンの前立腺癌に対する効果が消失しました。また、ER β 存在下において、ICIはKLF5依存的な遺伝子発現を増加さ

せ、一方でエストロゲンは **KLF5** 依存的な遺伝子発現を減少させました。ICI がアンドロゲン不応性の前立腺癌細胞を退縮させ、エストロゲンがその増殖を抑制するという、先の発見と合わせ、研究グループは **ER** リガンドが **KLF5** 依存的な遺伝子発現を通じ、前立腺癌に作用していると考えました。この仮説を証明するため、研究グループは **ER** リガンド投与もしくは **KLF5** 遺伝子発現抑制したアンドロゲン不応性細胞における遺伝子発現をマイクロアレイ法により計測し、標的となる遺伝子を検索しました。その結果、細胞死誘導因子 **FOXO1** を見出しました。前立腺癌細胞内での **FOXO1** 遺伝子の発現量はエストロゲン投与により減少し、ICI 投与により増加しました。**ER** リガンドによる **FOXO1** の発現変動は **KLF5** と **ERβ** の発現抑制により消失しました。これらの結果は、**ER** リガンド投与による **FOXO1** の遺伝子発現変動が **KLF5** と **ERβ** を介して発揮されていることを示しています。

(3) **ERβ** 及び **KLF5** は **FOXO1** のプロモーター領域に結合し、その発現量を調節している

次に研究グループは、前立腺癌における **FOXO1** の役割を検証しました。前立腺癌細胞内における **FOXO1** の発現量を増加させることにより、アノキスが誘導され、前立腺癌の腫瘍形成は抑制されました。一方、**FOXO1** の発現量を低下させると、アノキスは抑



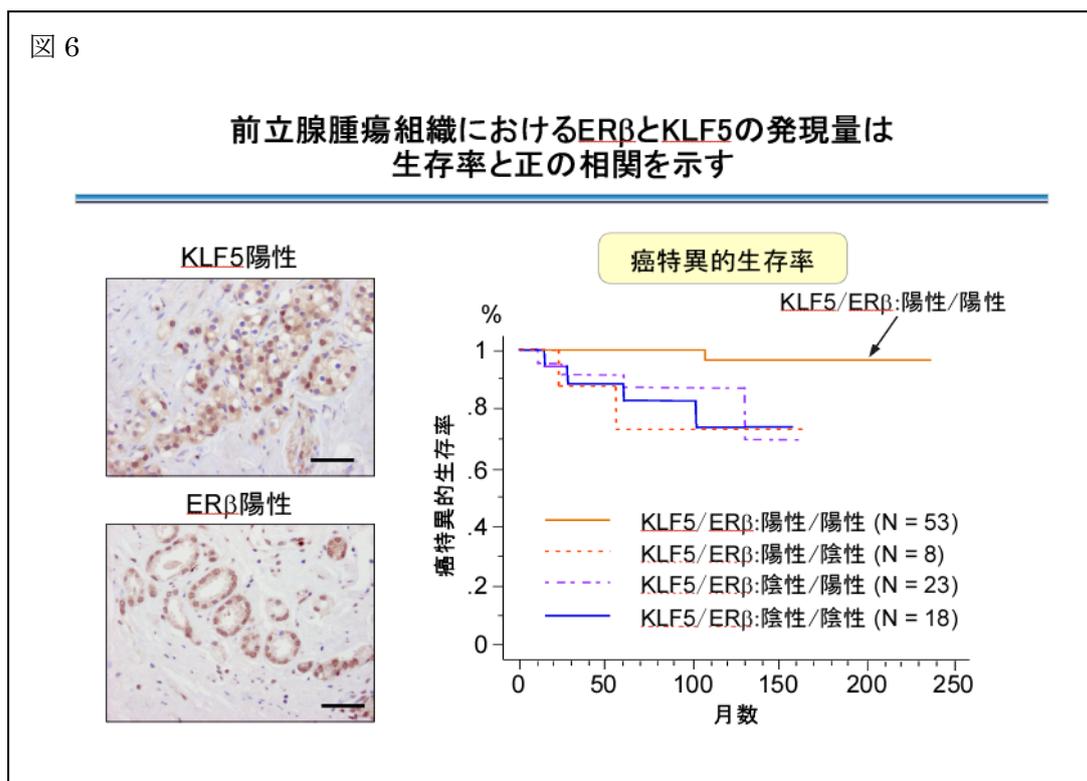
制され、腫瘍形成は促進されました。これらの結果から、**FOXO1** は前立腺癌腫瘍形成を抑制する因子であることが明らかになりました。また、**ERβ** が **KLF5** を介して **FOXO1** のプロモーターと呼ばれる転写制御領域に結合することを見出しました。さらに、共役転

写活性化因子（CBP）は ER β を介して FOXO1 プロモーター上に結合していました。この ER β と KLF5 を介した CBP の FOXO1 プロモーターへの結合は ICI 投与により増加しました。一方、エストロゲン投与により、ER β 、KLF5、CBP は FOXO1 のプロモーター上から解離しました。

以上の結果は、ER リガンドによる FOXO1 の転写への影響は ER β と KLF5 を介した CBP の FOXO1 プロモーターへのリクルート制御によることを示しています。【図 5】

（4）前立腺腫瘍組織における ER β と KLF5 の発現量は生存率と正の相関を示す

成人男性の正常時の体内エストロゲン濃度では ER β 依存的な KLF5 の転写抑制は認められません。そこで、研究グループは ER β または KLF5 の前立腺癌組織における発現量の違いにより前立腺癌患者を 4 グループ（ER β /KLF5；陽性/陽性、陰性/陽性、陽性/陰性、陰性/陰性）に分類し FOXO1 のタンパク質量及び生存率を測定しました。その結果、ER β ・KLF5 双方とも陽性の患者群の前立腺癌組織における FOXO1 の発現量は、他の群の患者組織における発現量よりも多く、さらに、生存率も高いということが分かりました。【図 6】



このことは ER リガンドが ER β と KLF5 を通じ FOXO1 の発現を制御すること、さらに、その結果生じる FOXO1 の発現変動が、前立腺癌の予後に影響を与えることを示しています。

3. 今後の期待

今回、乳癌治療薬フルベストラントによるアンドロゲン不応性再燃性前立腺癌の抑制メカニズムが解明できたことから、副作用の少ない新たな治療薬開発、新たな治療法の確立が期待できます。

4. 掲載論文名

Estrogen Regulates Tumor Growth Through a Nonclassical Pathway that Includes the Transcription Factors ER β and KLF5

DOI: 10.1126