

Title	抗癌剤耐性前立腺癌のゲノム不安定性の解析と合成致死を利用した新規治療戦略
Sub Title	Analysis of genomic instability in drug-resistant prostate cancer and novel therapeutic strategies using synthetic lethality
Author	本郷, 周(Hongo, Hiroshi) 小坂, 威雄(Kosaka, Takeo) 安水, 洋太(Yasumizu, Yota)
Publisher	
Publication year	2024
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	去勢抵抗性前立腺癌 (CRPC) の有効な治療法は少なく、新薬カバジタキセルも生命予後延長効果は数か月程度である。本研究は、DNA損傷応答関連遺伝子と抗癌剤耐性前立腺癌細胞株のクロマチン不安定性に着目し、新規治療戦略を追求した。カバジタキセル耐性前立腺癌細胞株の遺伝子発現プロファイルを解析し、耐性化による変化と逆相関する化合物をスクリーニングした結果、3種の薬剤が耐性前立腺癌の遺伝子プロファイルを再プログラム化する作用を持つことを見出した。 Effective treatments for castration-resistant prostate cancer (CRPC) are limited, and the new drug cabazitaxel extends life expectancy by only a few months. This study focused on DNA damage response-related genes and chromatin instability in drug-resistant prostate cancer cell lines to pursue new therapeutic strategies. We analyzed the gene expression profiles of cabazitaxel-resistant prostate cancer cell lines and screened for compounds that inversely correlate with the changes due to resistance. As a result, we identified three drugs that have the ability to reprogram the gene profiles of drug-resistant prostate cancer cells.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2021～2023 課題番号：21K09436 研究分野：泌尿器科学関連
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_21K09436seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：3 2 6 1 2

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：2 1 K 0 9 4 3 6

研究課題名（和文）抗癌剤耐性前立腺癌のゲノム不安定性の解析と合成致死を利用した新規治療戦略

研究課題名（英文）Analysis of Genomic Instability in Drug-Resistant Prostate Cancer and Novel Therapeutic Strategies Using Synthetic Lethality

研究代表者

本郷 周（Hongo, Hiroshi）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・訪問研究員

研究者番号：1 0 6 2 6 6 7 5

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：去勢抵抗性前立腺癌（CRPC）の有効な治療法は少なく、新薬カバジタキセルも生命予後延長効果は数か月程度である。本研究は、DNA損傷応答関連遺伝子と抗癌剤耐性前立腺癌細胞株のクロマチン不安定性に着目し、新規治療戦略を追求した。カバジタキセル耐性前立腺癌細胞株の遺伝子発現プロファイルを解析し、耐性化による変化と逆相関する化合物をスクリーニングした結果、3種の薬剤が耐性前立腺癌の遺伝子プロファイルを再プログラム化する作用を持つことを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CRPCに対する有効な治療法が限られている中で、本研究は薬剤耐性のメカニズムを解明し、新たな治療戦略を提案するものである。特に、カバジタキセル耐性前立腺癌細胞株の遺伝子発現パターンの変化に注目し、臨床で使用可能な既存の化合物の中から難治性CRPCに有効性を示す薬剤を3種同定したことは重要である。これらの薬剤は既に臨床使用の実績があり、前立腺癌治療薬としての応用が容易であるため、臨床への橋渡しがスムーズに行える可能性が高く、学術的および社会的に有望な成果である。

研究成果の概要（英文）：Effective treatments for castration-resistant prostate cancer (CRPC) are limited, and the new drug cabazitaxel extends life expectancy by only a few months. This study focused on DNA damage response-related genes and chromatin instability in drug-resistant prostate cancer cell lines to pursue new therapeutic strategies. We analyzed the gene expression profiles of cabazitaxel-resistant prostate cancer cell lines and screened for compounds that inversely correlate with the changes due to resistance. As a result, we identified three drugs that have the ability to reprogram the gene profiles of drug-resistant prostate cancer cells.

研究分野：泌尿器科学関連

キーワード：去勢抵抗性前立腺癌 DNA損傷応答 タキサン系抗癌剤耐性 DNA修復経路 薬剤スクリーニング

1. 研究開始当初の背景

転移性前立腺癌の治療は、アンドロゲン受容体拮抗薬(Androgen receptor; AR)および LHRH アゴニスト/アンタゴニストによるホルモン療法が中心となる。ホルモン療法により多くの症例で一時的な寛解が得られるが、数年の内にホルモン抵抗性を獲得する。これを去勢抵抗性前立腺癌: Castration Resistant Prostate Cancer; CRPC と表記する。CRPC に対して、本邦においてドセタキセルによる化学療法が広く行われてきた。また、近年ではエンザルタミド、アピラテロン、カバジタキセル等の新規治療薬も近年使用され始めているが、その生命予後改善効果はいずれも数か月程度である。今までの当教室における先行研究において、前立腺癌微小環境で PI3K/Akt シグナル経路が亢進しており、PI3K/Akt シグナルと AR との相互依存的な活性化機構を有していることを発見し、相互依存的な活性化機構をターゲットとした新規治療戦略の可能性について報告してきた。さらに申請者らはカバジタキセル耐性 CRPC モデル細胞株を独自に樹立し、カバジタキセル耐性 CRPC における PI3K/AKT/mTOR axis, MEK/ERK axis の亢進が治療標的になり得ることを報告した (Hongo H. et al, Cancer Sci. 2018) が、前立腺癌に承認された PI3K/AKT/mTOR axis, MEK/ERK axis の阻害剤は存在せず、新規治療戦略の確立は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

カバジタキセル耐性 CRPC は極めて予後不良であり、新規治療戦略の確立は喫緊の課題である。一方でカバジタキセル耐性獲得メカニズムは未解明であり、カバジタキセル耐性モデル細胞株も報告がない。申請者らは、転移性 CRPC 細胞株 DU145, PC3 へカバジタキセルを投与し続けることにより、カバジタキセル耐性 CRPC モデル DU145CR, PC3CR を樹立した (Hongo H et al, Cancer Sci. 2018)。カバジタキセル耐性 CRPC モデル細胞株は世界でも報告がなく、当教室独自のモデルである。CBZ 耐性 CRPC モデルの遺伝子情報を次世代シーケンサーで解析した結果、CBZ 耐性細胞株では染色体の欠失・増幅が多発しており、クロマチン不安定性が CBZ 耐性に関わる可能性が示唆された。CBZ 耐性モデルのクロマチン不安定性が治療標的となりうる可能性を考え、CBZ 感受性細胞株、耐性細胞株に放射線を照射し DNA 障害を誘導した結果、CBZ 耐性株における放射線への感受性亢進を認めた。DDR 関連遺伝子は難治性前立腺癌の治療標的となりうると思われたが、本邦で前立腺癌へ承認された薬剤はなく、PARP 阻害剤オラパリブが前立腺癌治療薬として海外承認されたが、欧米では既に耐性化が問題となっている。本研究ではカバジタキセル耐性獲得における DNA 損傷応答のリモデリングを解析した上で、バイオインフォマティクスを応用した薬剤スクリーニングによる新規治療戦略の導出を目的としている。

3. 研究の方法

当施設で確立したバイオインフォマティクスによる独自の薬剤スクリーニング手法(Kosaka T et al, Cancer Sci. 2013) を応用し、CBZ 耐性 CRPC 細胞株 DU145CR, PC3CR のマイクロアレイデータを用いて、*in silico* にて化合物スクリーニング (Connectivity map analysis) を行った。その結果、3 種の薬剤において抗癌剤耐性前立腺癌の遺伝子プロファイル、抗癌剤感受性の遺伝子プロファイルへ再プログラム化する作用を持つことを見出した。RNA シーケンシング・ウェスタンブロッティング及び、液体クロマトグラフ質量分析による網羅的リン酸化解析を行い、同定された 3 種の薬剤の治療標的候補分子を探索した。さらに前立腺癌皮下腫瘍モデルマウスに同定された薬剤を投与し、抗腫瘍効果を確認した。

4. 研究成果

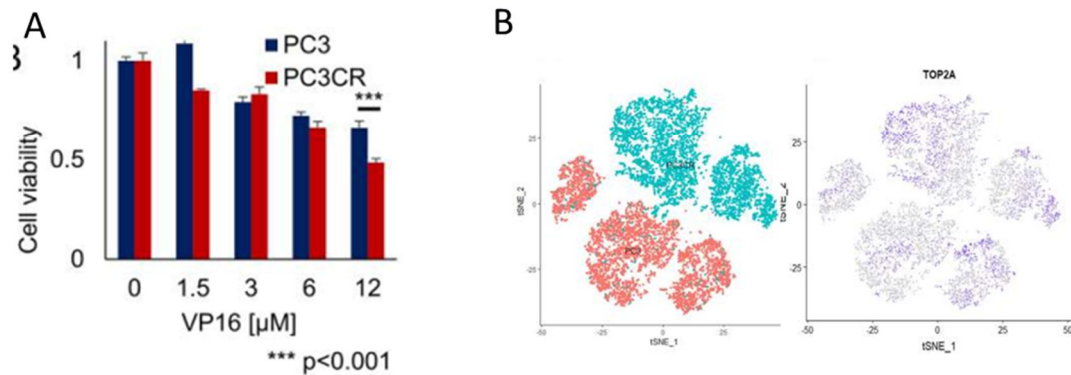
(1) バイオインフォマティクスを応用した薬剤スクリーニング

当施設で独自に樹立したカバジタキセル耐性前立腺癌細胞株およびタキサン系抗癌剤耐性前立腺癌遺伝子発現解析のデータをもとに、治療抵抗性獲得に伴う遺伝子発現ネットワークの変化を、治療感受性のネットワークへ再プログラム化する候補薬剤を *in silico* でスクリーニングした。リストアップされた薬剤を各種前立腺癌細胞株に投与し、*in vitro* スクリーニングを行った結果、3 種の薬剤をカバジタキセル耐性前立腺癌克服薬剤として同定した。

(2) エトポシドによる DNA 損傷応答経路を標的とした抗腫瘍効果

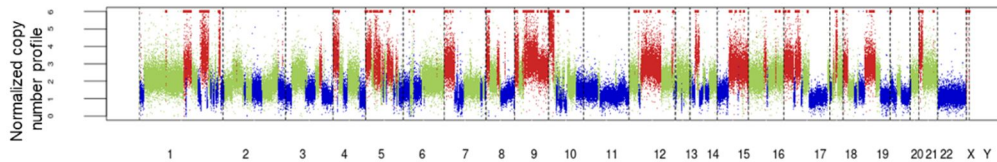
トポイソメラーゼ II α (TOP2A) 阻害剤であるエトポシド (VP16) は CBZ 耐性前立腺癌細胞株 PC3CR に有意な抗腫瘍効果を示した (図 1 A)。さらにシングルセル RNA シーケンシングの結果、TOP2A 発現の腫瘍内不均一性および PC3CR における TOP2A 発現亢進を認めた (図 1 B)。

図1: エトポシドの抗腫瘍効果と カバジタキセル耐性前立腺癌におけるTOP2A発現



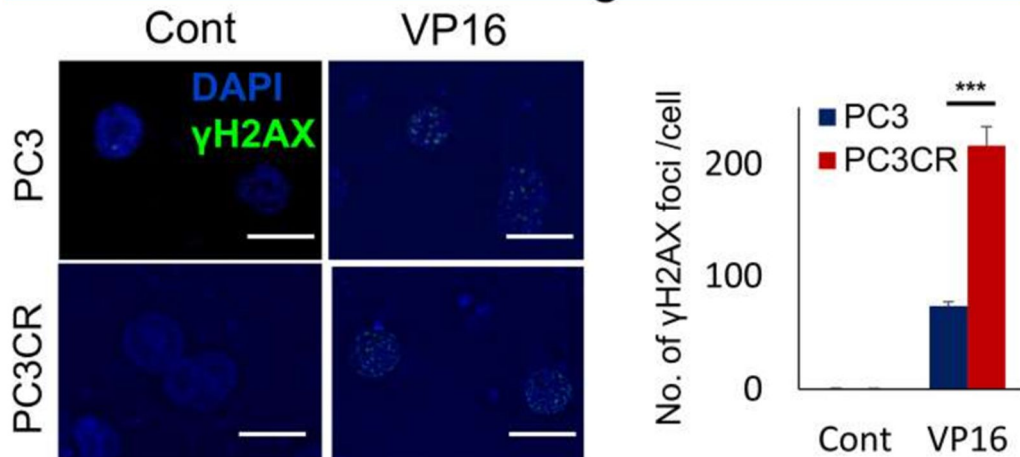
抗腫瘍効果メカニズム解析のため CBZ 耐性前立腺癌細胞株の全エクソンシーケンシングを行った結果、CBZ 耐性前立腺癌において遺伝子の欠失・増幅が多発しており、クロマチン不安定性が示唆された (図 2)。

図2: カバジタキセル耐性前立腺癌のゲノムコピー数解析



エトポシドはカバジタキセル耐性前立腺癌における DNA 2 本鎖切断を亢進させており、DNA 損傷応答を標的として抗腫瘍効果を発揮すると考えられた (図 3)。

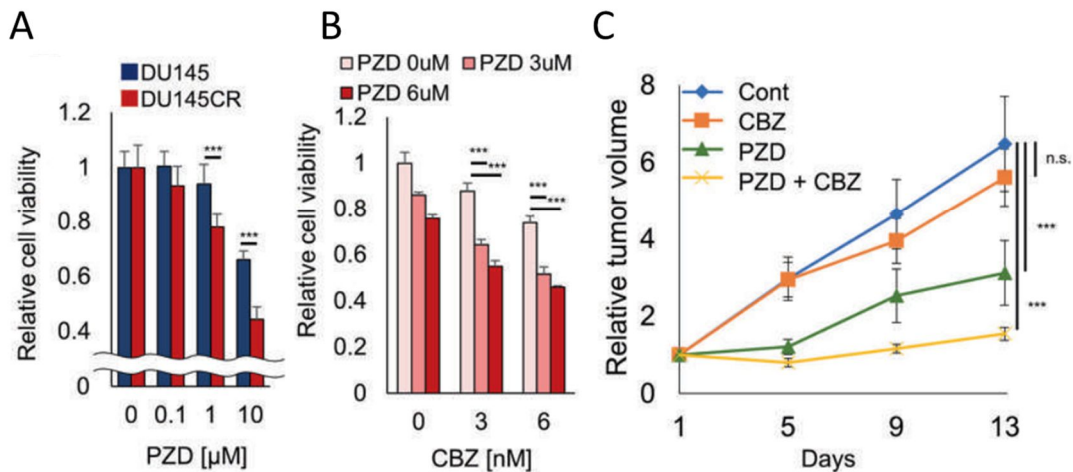
図3: γH2AX 蛍光染色によるDNA損傷応答解析



(3) ピモジドによるオーロラキナーゼ B を標的とした抗腫瘍効果

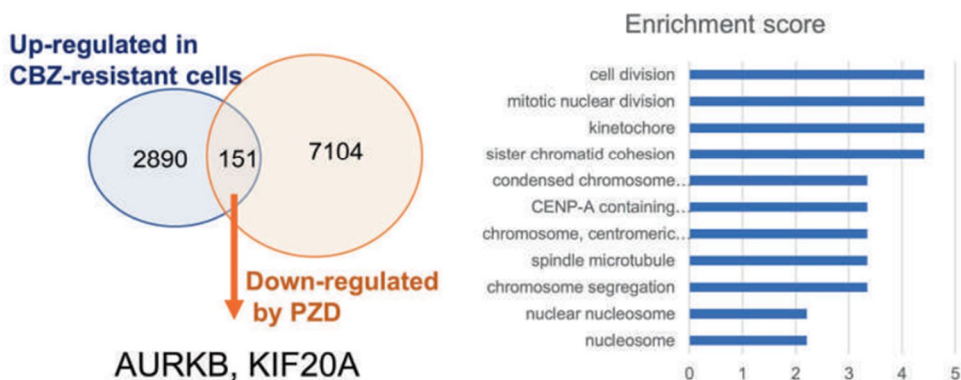
抗精神病薬ピモジドはエトポシドと同様、CBZ 耐性前立腺癌細胞株 DU145CR に有意な抗腫瘍効果を示した (図 4A)。また、カバジタキセルとの併用投与により、DU145CR のカバジタキセル感受性を亢進させた (図 4B)。マウス皮下腫瘍モデルにおいてもピモジドは有意にカバジタキセル耐性前立腺癌の腫瘍増大を抑制した (図 4C)。

図4: ピモジド(PZD)の抗腫瘍効果とカバジタキセル(CBZ)との併用効果



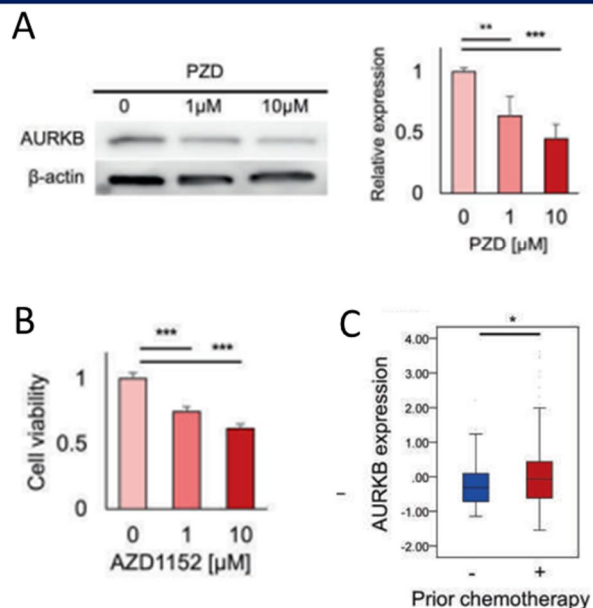
ピモジドの治療標的探索のためマイクロアレイ解析を行った結果、M 期において染色体の対称な分裂を制御するオーロラキナーゼ B (AURKB) の関与が示唆された (図 5)。

図5: ピモジド(PZD)の標的解析



ピモジドの投与により CBZ 耐性前立腺癌細胞株における AURKB の発現は低下し (図 5A)、AURKB 特異的阻害剤である AZD1152 は、CBZ 耐性前立腺癌細胞株 DU145CR に有意な抗腫瘍効果を示した (図 5B)。また、過去に報告された致死性前立腺癌次世代シーケンサーコホートデータを再解析した結果、タキサン系抗癌剤治療後の検体において、AURKB 発現が有意に亢進していた (図 5C)。

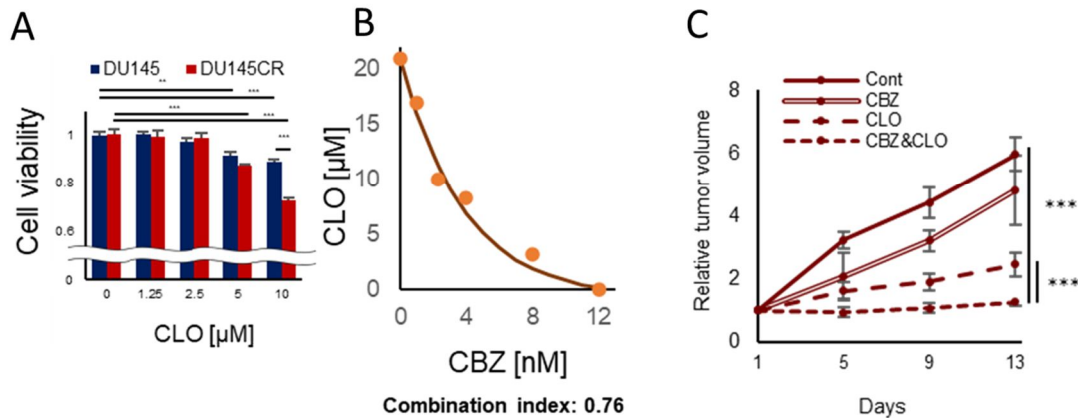
図6: AURKB抑制による抗腫瘍効果と臨床的意義



(4) クロペラスチンによるオキシトシンシグナルとした抗腫瘍効果

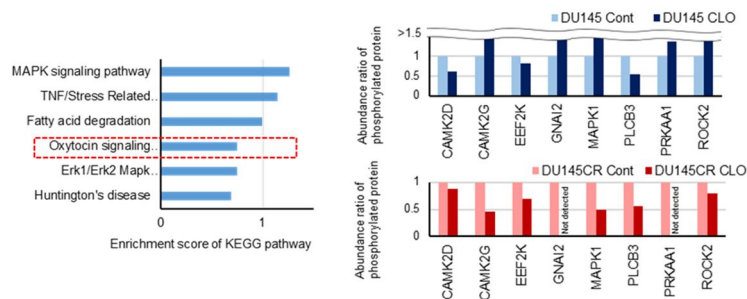
エトポシド・ピモジドと同様に鎮咳薬のクロペラスチンはカバジタキセル耐性前立腺癌における抗腫瘍効果を有していた(図7A)。さらにクロペラスチンはカバジタキセルとの併用投与により相乗効果を発揮した(図7B)。カバジタキセル耐性前立腺癌皮下腫瘍モデルマウスにおいても、クロペラスチンは皮下腫瘍の増大を有意に抑制した(図7C)。

図7: クロペラスチン(CLO)の抗腫瘍効果とカバジタキセル(CBZ)との併用効果



さらに液体クロマトグラフ質量分析を用いた網羅的リン酸化解析の結果、クロペラスチンは、カバジタキセル耐性前立腺癌特異的にオキシトシン受容体シグナルを阻害し、抗腫瘍効果を発揮していた(図8)。

図8: 液体クロマトグラフ質量分析によるクロペラスチンの網羅的リン酸化解析



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hongo Hiroshi, Kosaka Takeo, Suzuki Yoko, Oya Mototsugu	4. 巻 26
2. 論文標題 Discovery of a new candidate drug to overcome cabazitaxel-resistant gene signature in castration-resistant prostate cancer by in silico screening	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Prostate Cancer and Prostatic Diseases	6. 最初と最後の頁 59 ~ 66
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41391-021-00426-0	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hongo Hiroshi, Kosaka Takeo, Nakamura Kohei, Mikami Shuji, Nishihara Hiroshi, Oya Mototsugu	4. 巻 9
2. 論文標題 The first Japanese case of intraductal cancer of the prostate with checkpoint kinase 2 mutation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Urology	6. 最初と最後の頁 480 ~ 482
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajur.2022.02.002	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hongo Hiroshi, Kosaka Takeo, Suzuki Yoko, Mikami Shuji, Fukada Junichi, Oya Mototsugu	4. 巻 11
2. 論文標題 Topoisomerase II alpha inhibition can overcome taxane-resistant prostate cancer through DNA repair pathways	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-01697-2	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hongo Hiroshi, Kosaka Takeo, Suzuki Yoko, Oya Mototsugu	4. 巻 -
2. 論文標題 Discovery of a new candidate drug to overcome cabazitaxel-resistant gene signature in castration-resistant prostate cancer by in silico screening	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Prostate Cancer and Prostatic Diseases	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41391-021-00426-0	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hongo Hiroshi、Kosaka Takeo、Nakatsuka Seishi、Oya Mototsugu	4. 巻 -
2. 論文標題 A long-term survivor of metastatic neuroendocrine prostate cancer treated with multimodal therapy: genetic consideration from next-generation sequencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Cancer Conference Journal	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13691-021-00482-2	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kosaka Takeo、Hongo Hiroshi、Hayashi Hideyuki、Nakamura Kohei、Nishihara Hiroshi、Mikami Shuji、Beltran Himisha、Oya Mototsugu	4. 巻 24
2. 論文標題 Germline BRCA2 mutation in a case of aggressive prostate cancer accompanied by spinal bulbar muscular atrophy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Asian Journal of Andrology	6. 最初と最後の頁 116～116
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4103/aja.aja_37_21	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 本郷 周、小坂 威雄、西原 広司、植田 幸嗣、大家 基嗣
2. 発表標題 シングルセル解析によるタキサン系抗癌剤耐性前立腺癌の病態解明と新規治療戦略
3. 学会等名 第109回日本泌尿器学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分担 者	小坂 威雄 (Kosaka Takeo) (30445407)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師 (32612)	

6．研究組織（つづき）

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究 分 担 者	安水 洋太 (Yasumizu Yota) (40464854)	慶應義塾大学・医学部（信濃町）・助教 (32612)	

7．科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8．本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------