

Title	Potential Mechanism for the Effects of Dexamethasone on Growth of Androgen-Independent Prostate Cancer
Author(s)	西村, 和郎
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44404">https://hdl.handle.net/11094/44404</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	にしむらかずお 西村和郎
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第17227号
学位授与年月日	平成14年5月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Potential Mechanism for the Effects of Dexamethasone on Growth or Androgen-Independent Prostate Cancer (アンドロゲン非依存性前立腺癌の増殖に対するデキサメサゾンの作用機構)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦  (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

### 論文内容の要旨

#### 【目的】

前立腺癌はアンドロゲン依存性に増殖するため、アンドロゲン除去により腫瘍が縮小することが知られている。しかし、いずれアンドロゲン非依存性の増殖を獲得するに至り、難治性となる。一方、デキサメサゾン (DEX) は強力な合成グルココルチコイドであり、アンドロゲン非依存性前立腺癌に対する臨床的な有用性が報告されているが、その作用機構は不明であった。NF- $\kappa$ B の標的遺伝子である IL-6 はアンドロゲン非依存性前立腺癌の増殖因子であることが報告されており、DEX は NF- $\kappa$ B の活性化を抑制することが知られている。また、NF- $\kappa$ B は、その内因性阻害因子である I $\kappa$ B と細胞質で結合し、不活性化されているが、活性化を受けると、I $\kappa$ B から離れ核へ移行し、転写因子として作用する。

そこで、DEX が NF- $\kappa$ B-IL-6 経路を介して直接的に前立腺癌の増殖を抑制するか否かについて検討した。

#### 【方法ならびに成績 1】

各前立腺癌培養細胞株 LNCaP (アンドロゲン依存性)、DU145 (アンドロゲン非依存性)、PC3 (アンドロゲン非依存性) におけるグルココルチコイドレセプター (GR) の mRNA および蛋白の発現を各 RT-PCR 法、Western Blot 法で検討した結果、DU145 および PC3 細胞において GR mRNA および蛋白の発現を認めた。共に DEX ( $10^{-8}$ – $10^{-5}$  M) 48 時間処理によって用量依存的に GR 蛋白の発現は低下したが、PC3 細胞の方が著明に低下した。一方、LNCaP 細胞では GR mRNA および蛋白の発現を認めなかった。

同様の細胞株を用いて、DEX ( $10^{-9}$ – $10^{-6}$  M) とコントロールの増殖変化 (5 日間培養) を MTT アッセイ法で比較検討した結果、DU145 細胞 ( $10^{-8}$ – $10^{-6}$  M) および PC3 細胞 ( $10^{-7}$  M) では DEX による抑制を認めたが、LNCaP 細胞では認めなかった。この結果より、DU145 細胞を DEX の作用機構を検討する細胞株モデルとして用いることにした。

DU145 細胞は NF- $\kappa$ B が恒常的に活性化されている。そこで、DEX ( $10^{-8}$ – $10^{-5}$  M) 48 時間処理後の NF- $\kappa$ B と I $\kappa$ B の蛋白発現レベルを Western Blot 法で検討した結果、NF- $\kappa$ B は変化無く、I $\kappa$ B は DEX 用量依存的に増加していた。一方、NF- $\kappa$ B の細胞内局在を間接蛍光抗体法によって検討した結果、コントロール細胞では部分的に認められた核内の NF- $\kappa$ B が、DEX ( $10^{-7}$  M) 48 時間処理細胞では消失し、細胞質に蓄積していた。また、DEX ( $10$

$10^{-8}$ – $10^{-5}$  M) 48時間処理後、培養上清中の IL-6 の発現を酵素抗体法にて測定した結果、DEX 用量依存的に IL-6 発現量は減少していた。

#### 【方法ならびに成績 2】

ヌードマウスおよびスキッドマウスを用いた DU145 細胞皮下移植モデルにおいて、低用量 DEX ( $1 \mu\text{g}/\text{匹} \times 3/\text{週}$ ) の皮下注射 ( $n=6$ ) をコントロール ( $n=6$ ) と比較検討した結果、両モデル共に低用量 DEX による有意な増殖抑制効果 (8 週後ヌードマウス;  $p=0.006$ 、7 週後スキッドマウス;  $p=0.026$ ) を認めた。

DU145 細胞皮下移植モデル (スキッドマウス) における低用量 DEX 投与後の GR の発現を免疫組織染色法にて検討した結果、コントロールと同様に投与 7 週後にも GR の発現を認め、低用量の DEX では GR の発現は保たれていた。また、前立腺癌の臨床検体 16 例 (アンドロゲン除去施行 11 例および未施行 5 例) を用いて、癌細胞における GR の発現を免疫組織染色法にて検討した結果、8 例 (50%) において高発現 (30%以上の癌細胞が陽性) を示し、アンドロゲン除去後の 11 例中 6 例 (55%) が高発現を示した。

#### 【総括】

GR を発現しているアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞 DU145 および PC3 は、DEX によって増殖が抑制され、GR を介した直接的な DEX の作用が示唆された。アンドロゲン除去後のヒト前立腺癌組織においても、GR を高発現している症例が確認され、アンドロゲン非依存性ヒト前立腺癌細胞は DEX の標的細胞になり得ると考えられた。

しかし、GR 時 DEX 用量依存的に発現が低下するため、増殖抑制作用を維持させるためには、低用量 DEX が適切であると考えられた。実際、DU145 細胞皮下移植モデルにおいて、低用量 DEX は移植腫瘍の GR の発現を維持させ、増殖抑制効果を発揮した。

GR を介した DEX の増殖抑制の作用機構として、1.  $I\kappa B$  の発現上昇による  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  の細胞質での蓄積、2.  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  の不活性化の結果としての IL-6 発現低下が示唆された。

### 論文審査の結果の要旨

デキサメサゾン は強力な合成グルココルチコイドであり、アンドロゲン非依存性前立腺癌に対する臨床的な有用性が報告されているが、その作用機構は不明であった。この論文は、デキサメサゾンの前立腺癌培養細胞株に対する直接的な増殖抑制効果を示し、動物モデルにおいても低用量デキサメサゾンによる増殖抑制効果を明らかにした。さらに、この作用機構として、グルココルチコイドレセプターを介した  $I\kappa B$  の発現上昇、 $\text{NF-}\kappa\text{B}$  の核への移行阻止、IL-6 の発現低下を明らかにした。従って、学位論文に値すると考える。