

マクロファージによる前立腺癌のホルモン非依存性獲得機構の解明

2011年3月終了

先端生命科学専攻 がん先端生命科学分野

学生証番号 47-096327 氏名 千葉政子

指導教員 落合淳志教授

キーワード 前立腺癌、マクロファージ、アンドロゲン非依存性

[背景・目的]

前立腺癌は欧米では男性の癌による死因の第3位であり、日本でも罹患率が年々増加しており、2020年には罹患数が男性の癌の2位になると予想されている。前立腺癌はホルモン（アンドロゲン）依存性の癌であり、進行性前立腺癌に対してアンドロゲン除去療法が顕著な抗腫瘍効果を示す。しかしその効果は治療初期に限られていて、多くの患者において最終的にはアンドロゲン除去療法抵抗性となり再発する。このアンドロゲン除去療法抵抗性獲得の分子機構については、未だ十分に分かっていない。

アンドロゲン依存性ヒト前立腺癌細胞株である LNCaP 細胞は、アンドロゲンを除去したマウスの皮下には生着しない。しかし、当研究室の先行研究で、LNCaP 細胞とヒト単球の共移植により、アンドロゲン非存在下でもマウスの皮下に腫瘍が生着することを確認した。さらに生着した腫瘍内には、ヒト単球の死後もマウスマクロファージ (Mφ) が腫瘍組織内に浸潤していた。この Mφ の浸潤には、マウス Ccl2 (mCcl2) の関与が示唆された。また、ヒト組織を用いた検討により、アンドロゲン除去療法開始時に、癌組織内への Mφ 浸潤数の多い患者では、少ない患者に比べて再発しやすいことが分かった。以上の結果から、Mφ が前立腺癌のホルモン非依存性の獲得に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

本研究の目的を、前立腺癌のアンドロゲン非依存性の獲得に Mφ が寄与するかを検討することとした。そして、寄与する場合には、その分子機構を解明することを目指した。

[方法]

マウス Mφ がアンドロゲン非存在下における前立腺癌の腫瘍形成促進に働くかを *in vitro* で検討するために、アンドロゲン非存在下でマウス Mφ の培養上清を添加して、非添加群との LNCaP 細胞のコロニー形成能を比較検討した。

次に、mCcl2 を恒常発現させた細胞株 LNCaP-Ccl2 細胞を作製し、マウス皮下に移植することにより、マウス Mφ を癌組織内に集積させるモデルを作製した。本研究では、Mφ 集積モデルを応用することにより、アンドロゲン非依存性獲得機構をアンドロゲン非存在下における①生着及び②増殖の2つの段階に分けて検討した。①生着能の検討に関しては、アンドロゲン産生器官である睾丸を除去したマウスの皮下に LNCaP-Ccl2 細胞及び LNCaP-control 細胞を移植して、生着能を検討した。②増殖能の検討に関しては、マウスの皮下に LNCaP-Ccl2 細胞及び LNCaP-control 細胞を移植して、腫瘍体積が 65~100mm³ に達した時点で睾丸除去を行い、腫瘍細胞の増殖能を比較検討した。さらに、Mφ によるアンドロゲン非存在下における前立腺癌の増殖促進機構として、アンドロゲン受容体 (AR) - 前立腺特異的抗原 (PSA) 経路及び血管新生の関与を検討した。

[結果・考察]

1) コロニー形成能…アンドロゲン非存在下で LNCaP 細胞にマウス Mφ の培養上清を添加すると、Mφ 培養上清の濃度依存的に LNCaP 細胞のコロニー形成能が促進された (図 1)。このことから、マウス Mφ は可溶性因子を産生することにより、アンドロゲン非存在下における前立腺癌の腫瘍形成に寄与することが示唆された。

2) Mφ 集積モデルの作製及び検討…アンドロゲン存在下のマウス皮下移植において、LNCaP-Ccl2 細胞は LNCaP-control 細胞に比べて、癌組織内に多くの Mφ を浸潤させることを確認した。この Mφ 集積モデルを応用して、アンドロゲン非存在下における LNCaP 細胞の生着及び増殖を検討した。

3) 生着への寄与…アンドロゲン非存在下における生着能を比較したところ、LNCaP-Ccl2 細胞移植群では LNCaP-control 細胞移植群に比べて高頻度で腫瘍が生着した (図 2)。Mφ がアンドロゲン非存在下における LNCaP 細胞の生着に寄与することが示唆された。

4) 増殖への寄与…アンドロゲン非存在下における増殖能を検討したところ、LNCaP-Ccl2 細胞移植群では LNCaP-control 細胞移植群に比べて、癌組織内への Mφ の浸潤数が多く、また高い増殖能を示した (図 3a)。Mφ がアンドロゲン非存在下における LNCaP 細胞の増殖に寄与することが示唆された。

5) Mφ による前立腺癌増殖促進機構…増殖モデルにおいて、前立腺癌の増殖機構の1つである AR-PSA 経路の促進を調べたが、LNCaP-Ccl2 細胞移植群と LNCaP-control 細胞移植群では AR の核内移行及び PSA の発現には変化がなかった。一方で、アンドロゲン存在下では LNCaP-Ccl2 細胞移植群と LNCaP-control 細胞移植群で血管新生に差がなかったのに対して、アンドロゲン非存在下では LNCaP-Ccl2 細胞移植群において血管新生が促進されていた (図 3b)。さらに種々の血管新生促進因子の発現を調べたところ、癌間質由来の mTgfb1 mRNA の発現が LNCaP-Ccl2 細胞移植群では有意に高かった (図 3c)。

[結論]

これらの結果より、Mφ はアンドロゲン非存在下における前立腺癌の生着及び増殖に寄与することが示された。この機構が前立腺癌のホルモン非依存性の獲得に寄与すると共に、その機構として可溶性因子や血管新生などの存在が示唆された。

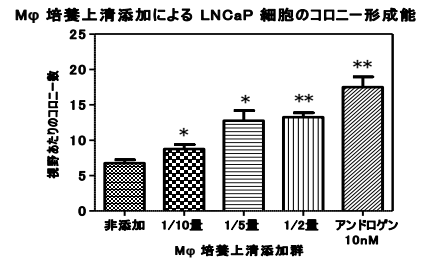


図1. コロニー形成能
アンドロゲン除去培地にマウス Mφ の培養上清を添加して、LNCaP 細胞のコロニー形成能を比較した。

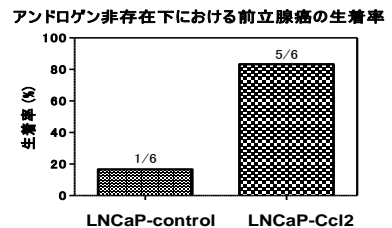


図2. 生着能
アンドロゲンを除去したマウスの皮下に LNCaP-control 細胞及び LNCaP-Ccl2 細胞を移植して、8週間後に腫瘍の生着を比較した。

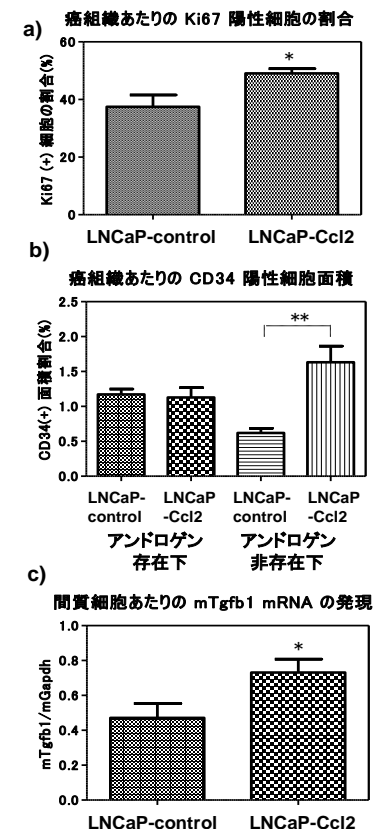


図3. 増殖能及び増殖促進機構
a) マウスの皮下に LNCaP-control 細胞及び LNCaP-Ccl2 細胞を移植し、アンドロゲン除去5週間後の腫瘍を用いて、増殖細胞数を比較した。
b) 同様に、視野あたりに占める血管内皮細胞の割合を比較した。
c) アンドロゲン除去5週間後の腫瘍の Tgfb1 mRNA の発現を比較した。