

前立腺癌におけるアンドロゲン受容体とアンドロゲンシグナル経路

- アンドロゲン受容体が引き起こす染色体転座 -

大日方大亮¹⁾、高橋 悟²⁾

1) 日本大学医学部 泌尿器科学系泌尿器科学分野 助教

2) 日本大学医学部 泌尿器科学系泌尿器科学分野 教授

【はじめに】

前立腺癌は、高齢化社会の到来と食生活の欧米化により、本邦における罹患者数が他の癌と比較して著明に増加傾向にある。2008年の男性における部位別癌罹患者数において第4位であり、70歳以降になるとその割合はさらに増加する。1940年代に Huggins らは去勢術により前立腺癌の進行が抑制されることを報告^(1, 2)し、男性ホルモン(アンドロゲン)が前立腺癌の発生、進行において重要であることが判明した。アンドロゲンは前立腺細胞に存在する核内受容体の一種であるアンドロゲン受容体 (Androgen receptor; AR) と結合し、細胞内に移行する。その後 AR 転写補助因子と協調しながら標的遺伝子のプロモーターならびにエンハンサー領域内のアンドロゲン受容体結合配列 (AR responsive elements; ARE) に結合し、遺伝子発現を調節する。前立腺上皮内腫瘍から前立腺癌発癌に至るまで、活性化された AR が大部分の前立腺細胞内で発現している。また治療開始時点において、約 90%の前立腺癌はアンドロゲン依存性増殖能を有すると報告されている⁽³⁻⁵⁾。そのため、手術療法ならびに放射線療法が発達した現在でも、前立腺癌に対する内分泌療法は重要な位置を占めている。

臨床で用いられている内分泌療法薬は男性ホルモンの産生を抑制させる GnRH アナログ製剤と、男性ホルモンが AR に結合するのを抑制させる抗アンドロゲン剤に大別される。内分泌療法を継続することにより前立腺癌の縮小効果が得られるが、約 3 年経過すると前立腺癌細胞の形質が変化し治療に抵抗を示す「去勢抵抗性前立腺癌 (Castration resistance prostate cancer; CRPC)」と呼ばれる状態となる⁽⁶⁾。しかし驚くべきことに CRPC の細胞内においてアンドロゲン濃度は上昇しており、また増殖、進行において AR は依然として重要であることが近年判明している^(7, 8)。今回、AR およびアンドロゲンシグナル経路からみた去勢抵抗性獲得のメカニズムを概説し、我々が現在取り組んでいる同メカニズムを標的とする新規治療薬開発について紹介する。

Key words : 前立腺癌、アンドロゲン受容体 (AR)、融合遺伝子

【去勢抵抗性におけるアンドロゲンシグナル伝達経路の役割】

ARはステロイドホルモン受容体ファミリーに属し、N末端領域、DNA結合領域、リガンド結合領域に分かれる。リガンド結合領域はアンドロゲンが結合する部位であり、アンドロゲンシグナル経路のファーストステップに関係する。前立腺癌におけるARの構造変化はリガンド結合領域内の点突然変異に多く、後述のように去勢抵抗性の獲得の一因になっている。N末端領域はARの活性化を担い、様々な転写補助因子の結合により調節されている。DNA結合領域はARの核内移行ならびにAREへの結合を司る。さらにDNA結合領域を通じARは二量体を形成し、AREへの結合力を高める。

去勢抵抗性獲得のメカニズムとして、5つの分類がなされているが、このうち主要なものは3つあり、いずれもARおよびアンドロゲンシグナル経路に関連している。

1) ARの活性増強(Hypersensitivity)

ARの過剰発現もしくは転写補助因子の発現変化によるアンドロゲン感受性の亢進、および転写能の活性化である。

2) ARのリガンド結合特異性の低下(Promiscuous)

リガンド結合領域の構造変化によりアンドロゲン以外の分子が結合し、ARの活性化が発生する状態である。抗アンドロゲン剤自体がリガンドとして作用することにより前立腺癌の進行を亢進させてしまうアンドロゲン除去症候群と関係している。

3) ARを介さないアンドロゲンシグナル経路の活性化(Outlaw)

ARとは別の分子がアンドロゲンシグナル経路を活性化させることを言う。このように、ARならびにアンドロゲンシグナル経路は前立腺癌において活性が恒常的に上昇している。アンドロゲンシグナル経路の終点は標的遺伝子（アンドロゲン応答遺伝子）の発現である。すなわちアンドロゲン応答遺伝子の過剰発現が去勢抵抗性の有無を問わず前立腺癌進行の主体である。アンドロゲン応答遺伝子は非常に種類が多く、その大部分が未解明である。これに対し、我々は前立腺癌の進行に影響するアンドロゲン応答遺伝子を見出し、その発現を調節する転写補助因子の機能について報告している⁽⁹⁻¹²⁾。

一方で、ARは染色体転座を引き起こし、新たなアンドロゲン応答性を有する前立腺癌特異的融合遺伝子を発現させる(図1)。前立腺癌特異的融合遺伝子は2005年に発見されて以降、様々な種類が報告されており、そのほとんどはアンドロゲン応答性を有している。代表的な前立腺癌特異的融合遺伝子TMPRSS2-ERGについて詳細を述べる。

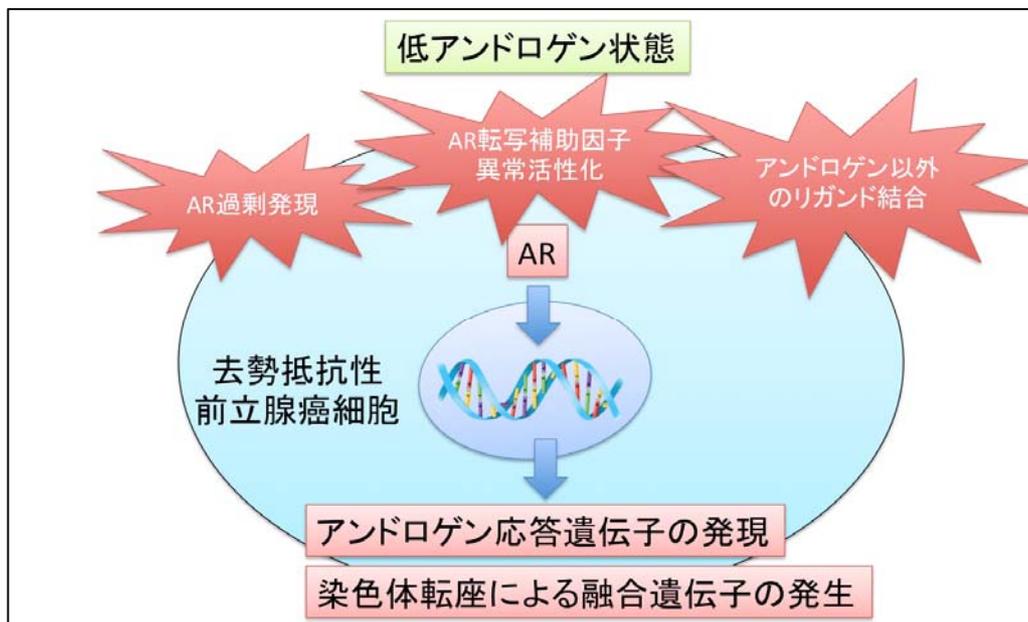


図1. 去勢抵抗性前立腺癌においてARは依然として重要な役割を担っている。

【前立腺癌特異的融合遺伝子 TMPRSS2-ERG】

染色体転座による融合遺伝子形成の意義には以下の2つがある。①癌原遺伝子が、ある遺伝子のプロモーター/エンハンサー領域の近傍に再配列されることで、癌関連タンパク質の発現の亢進を生じる。②2つの遺伝子が融合することで、全く新しい機能、発現様式を有する融合タンパク質が生成される可能性がある。例えば、慢性骨髄性白血病(CML)におけるBCR-ABL遺伝子がこれに相当し、チロシンキナーゼ様作用により細胞増殖を促進させることが知られている。

TMPRSS2は正常の前立腺細胞にも発現しているアンドロゲン応答遺伝子である。ERGは細胞増殖・分化に関与すると同時に、細胞癌化に重要な役割を果たしている遺伝子である。この染色体転座ならび融合遺伝子の発生にはARが重要である。TMPRSS2遺伝子とERG遺伝子には共通する配列TG (T or A) GGG (A or T)がそれぞれのイントロン内に存在する。この上流にARが結合すると、DNA損傷修復因子により共通配列の切断・再結合が発生し、TMPRSS2-ERG遺伝子が生成されるといわれている⁽¹³⁾。さらにアンドロゲン応答性のあるTMPRSS2遺伝子のプロモーター/エンハンサー領域の近傍にERG遺伝子が再配列されることにより、アンドロゲン依存性にTMPRSS2-ERGが発現する。またTMPRSS2-ERGは、融合していないERGの転写調節領域に結合し、発現を促進させる。その後ERGは前立腺癌におけるアンドロゲン非依存性増殖の中心を担っているとされている遺伝子EZH2を活性化させる^(14, 15)。つまり、ARは偶々出来た融合遺伝子の発現をアンドロゲン依存的に促進させるだけでなく、新たな融合遺伝子を生成し、前立腺癌細胞の発生、

増殖に有利な環境を作っている可能性がある。TMPRSS2-ERG は前立腺癌特異的融合遺伝子の中で最も発現頻度が多く、人種差があるものの約半数の症例に認められ、特異性が高いことが知られている⁽¹⁶⁾。さらに最近では前立腺癌の悪性度ならびに転移の有無と TMPRSS2-ERG の検出は相関し、有意な予後不良因子であるという報告がある^(17, 18)。そのため、現在アメリカにおいて尿中に含まれる同遺伝子をターゲットとした新規前立腺癌マーカーが開発されている。

【PI ポリアミドを用いた TMPSS2-ERG 抑制剤の開発】

このように TMPRSS2-ERG は前立腺癌の発癌・進行に重要であり、同遺伝子を標的とする製剤は前立腺癌の増殖や悪性化を抑制できると考えられる。融合遺伝子の生成、発現を阻害するためには、siRNA やアンチセンス核酸を投与して、発現を不安定化することによって前立腺癌を治療する方法等が開発されている⁽¹⁹⁾。しかし、siRNA やアンチセンス核酸は生体内で分解され易く、安定性が低い。そこで、我々は前立腺癌の治療に有効であり、かつ安定で安全な物質を得るために、ピロール・イミダゾール (PI) ポリアミドを用いた TMPRSS2-ERG 抑制剤の開発を行った。

PI ポリアミドは芳香族アミノ酸 N-methylpyrrole および N-methylimidazole で構成される低分子化合物で、DNA のマイナーグループに結合する性質を持つ⁽²⁰⁾。合成されたPI ポリアミドは、ピロール(Pyrrole: Py) / イミダゾール(Imidazole: Im) ペアは G (グアニン) C (シトシン)、Py/Py ペアは A (アデニン) T (チミン) または TA, Im/Py ペアは GC を認識し、これにより任意の二本鎖 DNA に塩基特異的に結合する (図 2)。PI ポリアミドと DNA への結合は、DNA 結合蛋白と DNA の結合に相当する親和性を持ち、Im/Py と Py/Py の組み合わせ次第で、多様な配列の DNA に結合させることができる。この特性を利用し、標的遺伝子の転写調節領域内に存在する転写因子の DNA 結合配列に特異的な PI ポリアミドを合成することにより、その結合を阻害し遺伝子発現を抑制することができる。

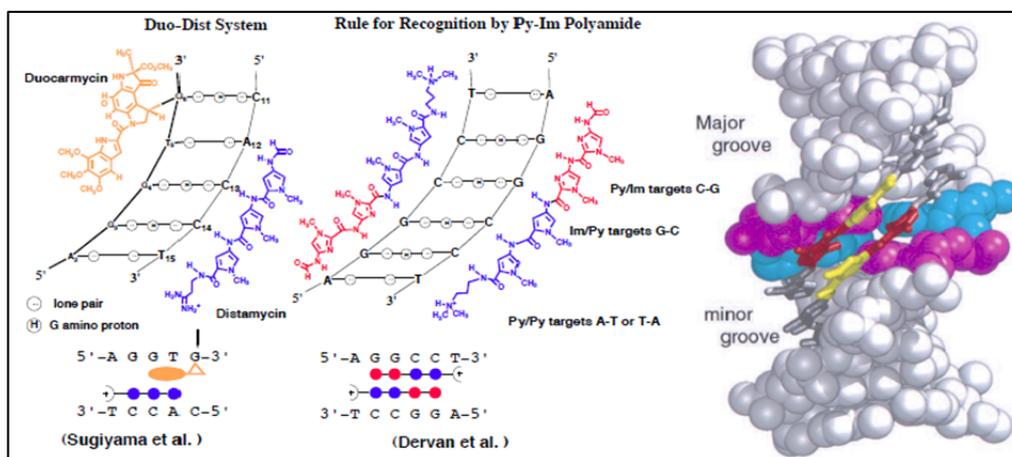


図 2. 次世代遺伝子制御薬 PI ポリアミドの特徴。

また、既存の核酸医薬とは異なり、核酸構造を持たず、生体内投与において Drug Delivery System を必要とせず、単独投与にて細胞の核、生体内にも臓器の核に効率よく長時間取り込まれる。分子標的治療薬として大きく期待される化合物であり、腫瘍で高発現している遺伝子を標的としたPI ポリアミドが抗腫瘍効果を持つ事が複数の細胞株にて確認されている。我々はこのPI ポリアミドを染色体転座の際切断される上記共通配列に結合するように合成し、TMPRSS2-ERG の発現抑制を試みた。アンドロゲンを投与することにより TMPRSS2-ERG が新たに発現することが知られている前立腺癌細胞株を用いた検討で、合成したPI ポリアミドは有意に染色体転座ならびに TMPRSS2-ERG の発現を抑制し、in vitro ならびに in vivo において細胞増殖を抑制させた(図3)⁽²¹⁾。

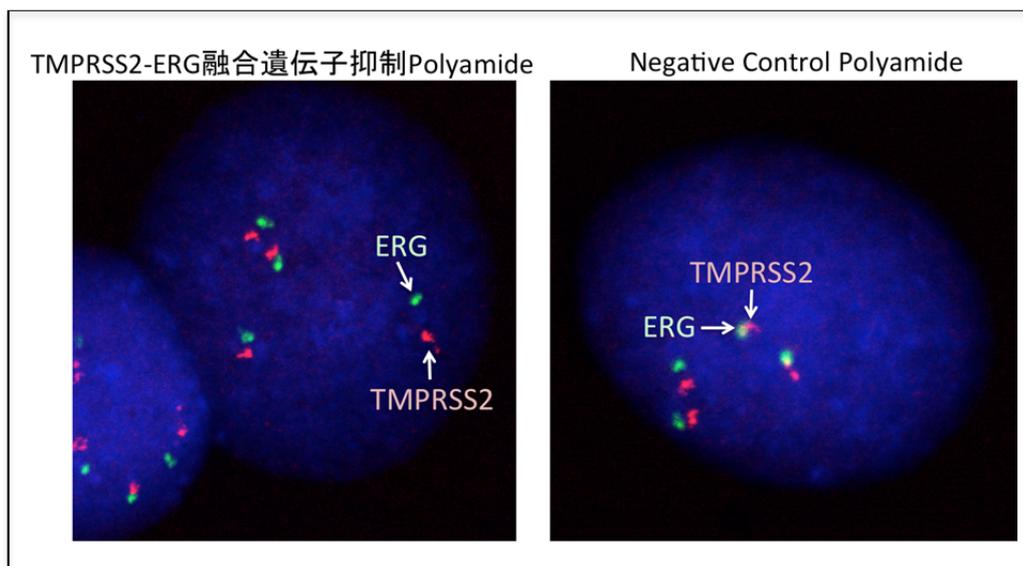


図3. TMPRSS2-ERG 融合遺伝子抑制ポリアミドは染色体転座を抑制させる。
Fluorescence in situ hybridization (FISH)法により TMPRSS2 (赤)、ERG (緑) を標識し、重なり合った部分を転座有りとして評価した。

【結語】

2014年本邦で、それまでドセタキセルが唯一の治療薬であった去勢抵抗性前立腺癌に対し、アンドロゲンシグナル経路を標的とした製剤が2剤(Enzalutamide, Abiraterone acetate)、ドセタキセル類似体であるカバジタキセルの使用が認可された。3剤ともドセタキセル抵抗性の前立腺癌に有効である事が既に大規模RCTで報告されている。ゲノム化学の発展により、さらに症例個々に対応したオーダーメイド医療の登場が予想される。現在去勢抵抗性前立腺癌に対する新規治療薬開発は活発であり、PI ポリアミドも有効かつ安全な薬剤の一つとして期待できると思われる。

【引用文献】

- (1) Huggins C, Hodges CV. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.* 1941; **1**: 293-7.
- (2) Huggins C. Effect of orchietomy and irradiation on cancer of the prostate. *Annals of surgery.* 1942; **115**: 1192-200.
- (3) Hobisch A, Culig Z, Radmayr C, Bartsch G, Klocker H, Hittmair A. Androgen receptor status of lymph node metastases from prostate cancer. *Prostate.* 1996; **28**: 129-35.
- (4) Tilley WD, Lim-Tio SS, Horsfall DJ, Aspinall JO, Marshall VR, Skinner JM. Detection of discrete androgen receptor epitopes in prostate cancer by immunostaining: measurement by color video image analysis. *Cancer Res.* 1994; **54**: 4096-102.
- (5) van der Kwast TH, Tetu B. Androgen receptors in untreated and treated prostatic intraepithelial neoplasia. *Eur Urol.* 1996; **30**: 265-8.
- (6) Scher HI, Buchanan G, Gerald W, Butler LM, Tilley WD. Targeting the androgen receptor: improving outcomes for castration-resistant prostate cancer. *Endocr Relat Cancer.* 2004; **11**: 459-76.
- (7) Locke JA, Guns ES, Lubik AA et al. Androgen levels increase by intratumoral de novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res.* 2008; **68**: 6407-15.
- (8) Pienta KJ, Bradley D. Mechanisms underlying the development of androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; **12**: 1665-71.
- (9) Fujimura T, Takahashi S, Urano T et al. Expression of androgen and estrogen signaling components and stem cell markers to predict cancer progression and cancer-specific survival in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2014.
- (10) Obinata D, Takayama K, Urano T et al. Oct1 regulates cell growth of LNCaP cells and is a prognostic factor for prostate cancer. *Int J Cancer.* 2012; **130**: 1021-8.
- (11) Obinata D, Takayama K, Urano T et al. ARFGAP3, an androgen target gene, promotes prostate cancer cell proliferation and migration. *Int J Cancer.* 2012; **130**: 2240-8.
- (12) Murata T, Takayama K, Urano T et al. 14-3-3zeta, a novel androgen-responsive gene, is upregulated in prostate cancer and promotes prostate cancer cell proliferation and survival. *Clin Cancer Res.* 2012; **18**: 5617-27.

- (13) Lin C, Yang L, Tanasa B et al. Nuclear receptor-induced chromosomal proximity and DNA breaks underlie specific translocations in cancer. *Cell*. 2009; **139**: 1069-83.
- (14) Mani RS, Iyer MK, Cao Q et al. TMPRSS2-ERG-mediated feed-forward regulation of wild-type ERG in human prostate cancers. *Cancer research*. 2011; **71**: 5387-92.
- (15) Yu J, Mani RS, Cao Q et al. An integrated network of androgen receptor, polycomb, and TMPRSS2-ERG gene fusions in prostate cancer progression. *Cancer Cell*. 2010; **17**: 443-54.
- (16) Mosquera JM, Mehra R, Regan MM et al. Prevalence of TMPRSS2-ERG fusion prostate cancer among men undergoing prostate biopsy in the United States. *Clin Cancer Res*. 2009; **15**: 4706-11.
- (17) Rajput AB, Miller MA, De Luca A et al. Frequency of the TMPRSS2:ERG gene fusion is increased in moderate to poorly differentiated prostate cancers. *Journal of clinical pathology*. 2007; **60**: 1238-43.
- (18) Kolar Z, Burdova A, Jamaspishvili T et al. Relation of ETS transcription factor family member ERG, androgen receptor and topoisomerase 2beta expression to TMPRSS2-ERG fusion status in prostate cancer. *Neoplasma*. 2014; **61**: 9-16.
- (19) Shao L, Tekedereli I, Wang J et al. Highly specific targeting of the TMPRSS2/ERG fusion gene using liposomal nanovectors. *Clin Cancer Res*. 2012; **18**: 6648-57.
- (20) Dervan PB. Molecular recognition of DNA by small molecules. *Bioorg Med Chem*. 2001; **9**: 2215-35.
- (21) Obinata D, Ito A, Fujiwara K et al. Pyrrole-imidazole polyamide targeted to break fusion sites in TMPRSS2 and ERG gene fusion represses prostate tumor growth. *Cancer Sci*. 2014; **105**: 1272-8.

前立腺癌におけるアンドロゲン受容体とアンドロゲンシグナル経路
— アンドロゲン受容体が引き起こす染色体転座 —

2015年1月30日発行

公益財団法人山口内分泌疾患研究振興財団

〒108-8532 東京都港区芝浦 2-5-1

E-Mail : office@yamaguchi-endocrine.org