

第63回 名古屋市立大学医学会総会

特 別 講 演 IV

前立腺癌に対する化学予防研究

高 橋 智

名古屋市立大学大学院医学研究科 実験病態病理学

Research on prostate cancer chemoprevention using animal model

SATORU TAKAHASHI

Department of Experimental Pathology and Tumor Biology

Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Abstract

Chemoprevention is one of attractive approaches for prostate cancer because of the high incidence and long latent period, and several dietary factors as well as genetic background have been linked to risk and progression of prostate cancer. Prostate cancer is known to be associated with aging, that is, about three-quarters of cases worldwide occur in men aged 65 years or more. Therefore, the main strategy with chemoprevention for prostate cancer is to delay the development of clinically evident disease due to suppression of progression from precancerous lesions to invasive cancer.

We have established an animal model whereby 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) administration induces ventral prostate carcinomas which are microscopic in size, non-invasive and androgen-dependent, while additional long-term treatment with testosterone propionate causes development of invasive and metastatic androgen-independent adenocarcinomas, arising from dorso-lateral and anterior prostate and seminal vesicles. However, a long period of about 60 weeks is required to induce prostate cancers and the frequency of lesion development is relatively low. Therefore, we established transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model using rat probasin promoter/SV40T antigen gene construct. TRAP rats develop high-grade prostatic intraepithelial neoplasia from 4 weeks of age and well-moderately differentiated adenocarcinomas with high incidences by 15 weeks of age. These adenocarcinomas were androgen dependent and almost all of them were noninvasive phenotype. The characteristics of the prostatic lesions developed in TRAP rats are suitable for evaluation of strategy for chemoprevention and treatment, and the data will be summarized.

1. はじめに

前立腺癌は米国男性において罹患率第1位、死亡率第2位であり、世界的に見てもその罹患

率は男性の悪性腫瘍中、肺癌、胃癌に次いで第3位である。日本においても食事の西洋化に伴って近年増加傾向が著しく、2020年には罹患

率第2位になると予想されている。初期の前立腺癌はホルモン治療に良好な反応を示すが、その多くは数年後に再発し、ホルモン治療のみならず種々の治療に対して抵抗性を示す。このような去勢抵抗性前立腺癌に対して分子標的治療薬を含めた種々の新規治療薬の開発が進められているが、一方で前立腺癌発症を抑える化学予防の検討も米国を中心に行われている。これまでの研究成果から前立腺癌は高齢者癌であること、食事などの環境要因に強く影響されること、臨床的に顕在化するまでに長期間を要すること、さらに日本人でも潜在癌が欧米と同様に高率に発生していて臨床癌発症の下地は十分にあることなどが明らかになっており、これらのことは前立腺癌に対する治療のみならずその発症予防が極めて重要、かつ実践可能な悪性腫瘍であることを示している。新規化学予防剤の開発・解析は初期段階の腫瘍を対象に行うことが望ましく、物質の代謝、体内分布・動態を解析するためにも転移病巣から確立した培養細胞を用いた *in vitro* の検討のみでは不十分であり、動物モデルによる検討が必須である。本稿では動物モデルを用いて行ってきた我々の前立腺癌化学予防研究について述べたい。

2. 化学予防研究のための動物モデル

(1) 化学物質誘発前立腺癌モデル

前立腺発癌物質である3,2'-Dimethyl-4-aminobiphenyl (DMAB) あるいは2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) をラットに20週間投与後40週間飼育観察する実験系で、60週間という長期間が必要である。齧歯類の前立腺は腹葉、側葉、背葉、前葉の4葉に分かれているが、上記発癌物質は両者とも腹葉前立腺に微小腺癌（アンドロゲン依存性）を誘発する。この実験系に高濃度テストステロンを長期間投与すると、浸潤性腺癌（アンドロゲン非依存性）を発生させることが可能となる¹⁾。

(2) 遺伝子改変ラット (TRAP モデル)

ラット Probasin 遺伝子プロモーターの下流に SV40T 抗原遺伝子を連結した構築遺伝子を

導入して作製した遺伝子改変ラットで、我々はこのラットを Transgenic Rat for Adenocarcinoma of Prostate (TRAP) と称している。このラットでは前立腺上皮に SV40T 抗原タンパクが発現し、4週齢で高異型度上皮内腫瘍 (High grade prostatic intraepithelial neoplasia: HGPIN)、15週齢ではほぼ全例に分化型腺癌が発生する。これらの腺癌のほとんどは非浸潤癌で、50週を越える長期にわたって観察しても微小浸潤を惹起する程度にとどまり、肉眼的に観察できるほどの浸潤癌あるいは遠隔転移は認められない。また、発生した腫瘍は精巣摘出あるいは抗アンドロゲン剤を投与することにより完全退縮することからアンドロゲン依存性腺癌であることを明らかにしている^{2,3)}。

3. ラット前立腺癌モデルを用いた発癌修飾作用の検討

我々は Table 1 に示すように長年にわたってラット前立腺癌モデルを用いて化学予防物質のスクリーニングを行ってきた。その中で一部の物質について研究成果を紹介する。

(1) 大豆イソフラボン

日本人に前立腺癌発生が少ない一因として、大豆食品由来のイソフラボン摂取量が多いことを疫学的研究により指摘されている。我々は大豆イソフラボンの主成分であるゲニスチン、ダイジンを DMAB モデルに投与し、両物質とも腹葉前立腺癌の発生個数、大きさを減少させることを明らかにした⁸⁾。また、大豆胚芽からのイソフラボン抽出物を PhIP モデルに投与した場合においても、腹葉前立腺癌の発生を抑制するとともに前癌病変である PIN から腺癌への進展を抑制することを明らかにした¹¹⁾。これらの発癌抑制の際に最も強い発現抑制を来したプロサイモシン α についてヒト前立腺癌を用いて解析したところ、正常前立腺上皮に比較して PIN、腺癌では有意に発現上昇が認められ、腺癌の異型度に相関してプロサイモシン α 発現増加が観察された。また、プロサイモシン α 発現をノックダウンすることにより前立腺癌細胞の増殖、浸潤能が抑制され、プロサイモシン

Table 1
Serial investigation for elucidation of chemopreventive agents for prostate cancer in our laboratory

動物モデル	被検物質	効果	文献
DMAB	セレンウム α -トコフェロール γ-オリザノール	— — —	<i>Cancer Lett.</i> , 1991 ⁴⁾ .
DMAB	コレステロール サボニン クロフィブレート	— — —	<i>Prostate</i> , 1992 ⁵⁾ .
DMAB DMAB + TP	インドメタシン	—	<i>Jpn. J. Cancer Res.</i> , 1997 ⁶⁾ .
DMAB DMAB + TP	タモキシフェン	—	<i>Prostate</i> , 1997 ⁷⁾ .
DMAB DMAB + TP	ゲニステン ダイジン	抑制 抑制	<i>Jpn. J. Cancer Res.</i> , 2000 ⁸⁾ .
DMAB PhP	リコペン クルクミン	— —	<i>Carcinogenesis</i> , 2001 ⁹⁾ .
DMAB + TP	牛脂 ペリラ油 コーン油	促進 — —	<i>Jpn. J. Cancer Res.</i> , 2001 ¹⁰⁾ .
PhP	フジフラボンP40	抑制	<i>Carcinogenesis</i> , 2004 ¹¹⁾ .
TRAP	リユープロレリン	抑制	<i>Cancer Sci.</i> , 2006 ¹²⁾ .
TRAP	フィナステリド フルタミド	抑制 抑制	<i>Prostate Cancer Prostatic Dis.</i> , 2007 ¹³⁾ .
TRAP	ノビレチン オーラブチン	抑制 抑制	<i>Cancer Sci.</i> , 2007 ¹⁴⁾ .
TRAP	レスベラトロール	抑制	<i>Asian Pac. J. Cancer Prev.</i> , 2008 ¹⁵⁾ .
TRAP	γ-トコフェロール	抑制	<i>Prostate</i> , 2009 ¹⁶⁾ .
TRAP	大豆由来Bowman-Birk プロテアーゼ阻害剤	抑制	<i>Pathol. Int.</i> , 2009 ¹⁷⁾ .
TRAP	アンギオテンシンII 受容体阻害剤	抑制	<i>Prostate</i> , 2012 ¹⁸⁾ .
TRAP	紫トウモロコシ色素	抑制	<i>Cancer Sci.</i> , in press ¹⁹⁾ .

TP, プロピオン酸テストステロン；—, 効果なし.

α は前立腺癌の進展に深く関与していることを明らかにした²⁰⁾.

(2) レスベラトロール

レスベラトロールは赤ブドウの皮に多く含まれるポリフェノールであり、ワインを愛飲するフランス人は高脂肪食を摂取しているにも関わらず、心血管疾患による死亡率が低いとされる“French Paradox”を説明する候補物質として注目されるようになった。種々の癌細胞に対する増殖抑制効果が報告され、前立腺癌細胞株においても同様に増殖抑制効果が示されているが、動物モデルによる前立腺発癌抑制は報告されておらず、我々はTRAPモデルを用いて検討を行った。その結果、前立腺腫瘍性病変の増殖・進展抑制が認められ、そのメカニズムとしてアンドロゲン受容体タンパク翻訳抑制によるアンドロゲン受容体シグナル伝達経路の抑制が関与していることを明らかにした¹⁵⁾。

(3) γ-トコフェロール

γ-トコフェロールはビタミンEの1つで、

食品中に含まれるビタミンEとしては最も多いものである。 α -トコフェロールに比較すると抗酸化作用は弱い、ナトリウム利尿作用、抗炎症作用、血小板凝集抑制作用など α -トコフェロールにはない作用を有している。γ-トコフェロール摂取量と前立腺癌リスクは逆相関することが疫学的に示されており、前立腺癌細胞の増殖を抑制する報告もなされている。我々はTRAPモデルを用いて検討した結果、前立腺腫瘍性病変の増殖・進展を抑制することが明らかとなり、そのメカニズムとしてカスパーゼ活性化を介したアポトーシスの亢進が重要であることが示された¹⁶⁾。

(4) アンギオテンシン受容体阻害剤 (Angiotensin II receptor blocker : ARB)

高血圧を合併した進行性前立腺癌患者にARBを投与することで、血清PSA値および日常生活動作の著明な改善が認められたとする報告がなされたことから、前立腺癌に対するARBの抗腫瘍効果が示唆された²¹⁾。そこでこの現象を実験的に証明するためにTRAPラットにARBを投与したところ、前立腺癌発生・進展を明瞭に抑制することが明らかとなった。その抑制機序としてユビキチン・プロテアソーム系の活性化によるアンドロゲン受容体タンパク発現低下およびp38 MAPK不活性化、エストロゲン受容体 β 発現上昇によるアポトーシス亢進が考えられた¹⁸⁾。また、前立腺全摘術を受けた前立腺癌患者を対象に臨床介入試験を行った結果、PSA再発(>0.2 ng/ml)からPSA値1.0 ng/mlに達するまでの期間がARB群ではプラセボ群に比較して有意に延長し、ARBはヒト前立腺癌においても抑制効果を示す事が示唆された¹⁸⁾。

4. 考 察

厚生労働省が掲げる「第3次対がん10カ年総合戦略」の方策の一つとして「がん予防の推進」が挙げられており、その中に化学予防の開発が含まれている。化学予防物質は長期的に服用する事を想定しているため、安価であるとともに副作用が極めて少なく、できればサプリメント

として苦もなく服用できるものが望まれる。In vitro 研究は多くの化学物質について細胞に対する増殖抑制効果をスクリーニングするのに簡便かつ効率的であるが、代謝、体内分布等は当然の事ながら考慮する事はできない。その意味から予防効果の確認のみならず、適切な用量、毒性発現の有無などの貴重な情報を得る事が可能となる動物モデルを用いた検討は、化学予防物質の検出において必要不可欠であると言える。また、化学予防物質の検出のみならず食品に含まれる物質の発癌に対する予防・抑制あるいは促進効果を明らかにすることにより、食生活の改善を癌化学予防の一案として国民に推薦できるものが提示できれば素晴らしいことである。化学予防物質をヒトに適用する場合、最終的には臨床介入試験による評価を行うことが必須であるが、その介入試験を行うには膨大な費用と管理された試験体制の構築が必要であり、個々の研究室レベルでは到底行えない。米国では国立癌研究所が試験諸費用を支援する形で行われており、日本においても国家レベルで癌化学予防物質の開発を可能とする環境整備が望まれる。

5. 文 献

- 1) Shirai T, Takahashi S, Cui L, et al.: Experimental prostate carcinogenesis --- rodent models. *Mutat. Res.*, **462**: 219-226, 2000.
- 2) Asamoto M, Hokaiwado N, Cho YM, et al.: Prostate carcinomas developing in transgenic rats with SV40T antigen expression under probasin promoter control are strictly androgen dependent. *Cancer Res.*, **61**: 4693-4700, 2001.
- 3) Cho YM, Takahashi S, Asamoto M, et al.: Age-dependent histopathological findings in the prostate of probasin/SV 40 T antigen transgenic rats: Lack of influence of carcinogen or testosterone treatment. *Cancer Sci.*, **94**: 153-157, 2003.
- 4) Nakamura A, Shirai T, Takahashi S, et al.: Lack of modification by naturally occurring antioxidants of 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-initiated rat prostate carcinogenesis. *Cancer Lett.*, **58**: 241-246, 1991.
- 5) Tagawa Y, Ozaki K, Takahashi S, et al.: Lack of effects of post-initiation cholesterol on 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl-induced prostate carcinogenesis. *Prostate*, **20**: 179-185, 1992.
- 6) Kawabe M, Shibata MA, Sano M, et al.: Decrease of prostaglandin E2 and 5-bromo-2'-deoxyuridine labeling but not prostate tumor development by indomethacin treatment of rats given 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl and testosterone propionate. *Jpn. J. Cancer Res.*, **88**: 350-355, 1997.
- 7) Miyata E, Kawabe M, Sano M, et al.: Effects of tamoxifen, an antiestrogen, on rat prostate carcinogenesis by 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl and testosterone do not support an estrogen role in testosterone promotion. *Prostate*, **31**: 9-13, 1997.
- 8) Kato K, Takahashi S, Cui L, et al.: Suppressive effects of dietary genistin and daidzin on rat prostate carcinogenesis. *Jpn. J. Cancer Res.*, **91**: 786-791, 2000.
- 9) Imaida K, Tamano S, Kato K, et al.: Lack of chemopreventive effects of lycopene and curcumin on experimental rat prostate carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **22**: 467-472, 2001.
- 10) Mori T, Imaida K, Tamano S, et al.: Beef tallow, but not perilla or corn oil, promotion of rat prostate and intestinal carcinogenesis by 3,2'-dimethyl-4-aminobiphenyl. *Jpn. J. Cancer Res.*, **92**: 1026-1033, 2001.
- 11) Hikosaka A, Asamoto M, Hokaiwado N, et al.: Inhibitory effects of soy isoflavones on rat prostate carcinogenesis induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] pyridine (PhIP). *Carcinogenesis*, **25**: 381-387, 2004.
- 12) Said MM, Hokaiwado N, Tang M, et al.: Inhibition of prostate carcinogenesis in probasin/SV 40T antigen transgenic rats by leuporelin, a luteinizing hormone-releasing hormone agonist. *Cancer Sci.*, **97**: 459-467, 2006.

- 13) Cho YM, Takahashi S, Asamoto M, et al.: Suppressive effects of antiandrogens, finasteride and flutamide on development of prostatic lesions in a transgenic rat model. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, **10**: 378-383, 2007.
- 14) Tang M, Ogawa K, Asamoto M, et al.: Protective effects of citrus nobiletin and auraptene in transgenic rats developing adenocarcinoma of the prostate (TRAP) and human prostate carcinoma cells. *Cancer Sci.*, **98**: 471-477, 2007.
- 15) Seeni A, Takahashi S, Takeshita K, et al.: Suppression of prostate cancer growth by resveratrol in the transgenic rat for adenocarcinoma of prostate (TRAP) model. *Asian Pacific J. Cancer Prev.*, **9**: 7-14, 2008.
- 16) Takahashi S, Takeshita K, Seeni A, et al.: Suppression of prostate cancer in a transgenic rat model via γ -tocopherol activation of caspase signaling. *Prostate*, **69**: 644-651, 2009.
- 17) Tang M, Asamoto M, Ogawa K, et al.: Induction of apoptosis in the LNCaP human prostate carcinoma cell line and prostate adenocarcinomas of SV40T antigen transgenic rats by the Bowman-Birk inhibitor. *Pathol. Int.*, **59**: 790-796, 2009.
- 18) Takahashi S, Uemura H, Seeni A, et al.: Therapeutic targeting of angiotensin II receptor type I to regulate androgen receptor in prostate cancer. *Prostate*, **72**: 1559-1572, 2012.
- 19) Long N, Suzuki S, Sato S, et al.: Purple corn color inhibition of prostate carcinogenesis by targeting cell growth pathways. *Cancer Sci.*, in press.
- 20) Suzuki S, Takahashi S, Takahashi S, et al.: Expression of prothymosin alpha is correlated with development and progression in human prostate cancers. *Prostate*, **66**: 463-469, 2006.
- 21) Yamagishi T, Uemura H, Nakaigawa N, et al.: Angiotensin II blocker decreases serum prostate specific antigen in hormone refractory prostate cancer. *J. Urol.*, **173**: 441, 2005.

