

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	去勢抵抗性前立腺がん治療のための AR-V7 の核移行を抑制する化合物の探索と機序解析				
研究組織	代表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太
	研究分担者	所属・職名	薬学部・教授	氏名	吉成 浩一
		所属・職名	薬学部・講師	氏名	菅野 裕一郎
		所属・職名	薬学部・助教	氏名	保坂 卓臣
	発表者	所属・職名	薬学部・助教	氏名	志津 怜太

講演題目	去勢抵抗性前立腺がん治療のための AR-V7 の核移行を抑制する化合物の探索
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>前立腺がんはアンドロゲンによるアンドロゲン受容体 (AR) の活性化により進行し、その治療には AR を標的とした抗アンドロゲン薬が用いられる。一方で抗アンドロゲン薬が効かない去勢抵抗性前立腺がん (CRPC) では、AR のスプライシングバリエーションである AR-V7 が高発現しており、AR-V7 の活性化依存的にがんが進行する。野生型 AR は細胞質に局在しておりリガンドであるアンドロゲンの結合によって核へ移行し標的遺伝子の転写を活性化するが、AR-V7 はリガンド結合ドメインを欠損しているため、リガンド非依存的に核に局在し、構成的に標的遺伝子の転写を活性化しており、抗アンドロゲン薬は効果がない。以上より、AR-V7 の恒常的な核局在の分子機序の解明は CRPC の新規治療薬の創出に繋がると考えた。本研究では、AR-V7 による転写のレポーターアッセイによる評価と、蛍光ラベルした AR-V7 のハイコンテント解析による細胞内局在の評価により AR-V7 の核局在を抑制する化合物を探索し、本化合物を用いた解析により AR-V7 の核局在機序を解明することを目的とした。</p> <p>被験物質は、ドラッグリポジショニングによる既存医薬品からの CRPC 治療薬の創出を考慮し、米国 FDA 承認医薬品 1661 種を用いた。ヒト前立腺がん由来 PC-3 細胞に AR 応答配列を組み込んだレポータープラスミドを導入し、被験物質 (10 μM、24 時間) 処置後のレポーター活性を測定した。また、PC-3 細胞に GFP 融合 AR-V7 を発現させ、被験物質処置後の細胞内局在をハイコンテント解析装置により評価した。レポーターアッセイで対照群の 40%以下までレポーター活性を抑制した 147 医薬品を初期陽性物質として得た。これらのうち、ハイコンテント解析で GFP 融合 AR-V7 の核移行抑制作用が高かった上位 5 医薬品を最終陽性化合物として選定した。得られた陽性物質を去勢抵抗性前立腺がん細胞株 22Rv1 細胞に処置し、WST-8 アッセイで細胞増殖への影響を調べたところ、5 医薬品中 3 医薬品 (thioridazine hydrochloride、chlorhexidine、digitoxin) が 22Rv1 細胞の細胞増殖を顕著に抑制することを見出した。実際に、前立腺がん由来細胞株である LNCaP 細胞を皮下注射した SCID マウスに thioridazine を処置すると、腫瘍の体積、重量が共に減少することが報告されている。以上より、本研究では AR-V7 の核局在を抑制する化合物スクリーニングを行い、3 種の陽性化合物を見出した。さらに、ハイコンテント解析において、対照群の 60%以下まで AR-V7 の核移行を抑制した医薬品は 31 種あり、そのうち thioridazine hydrochloride を含む 6 種の医薬品はフェノチアジン骨格を有していた。すなわち、フェノチアジン骨格を有する化合物は AR-V7 と何らかの相互作用を介して AR-V7 の核局在を抑制する可能性が高く、今後は、thioridazine hydrochloride を含むフェノチアジン関連化合物を用いて、AR-V7 の恒常的な核移行抑制メカニズムについて、明らかにしていく予定である。</p>