

[ 研究紹介 ]

## 泌尿器科学における研究

市川 智彦 鈴木 啓悦 小宮 顕  
小島 聡子 今本 敬

### I. はじめに

2005年4月13日～16日に東京で開催される、第93回日本泌尿器科学会総会において、シンポジウム「泌尿器科研究者をどのように育てるか」が企画されている。筆者もシンポジストとして講演する予定であるが、今まで取り上げられなかった興味深いテーマである。医科学における研究には、基礎医学に関連するものと臨床医学に関連するものがある。動物や細胞を用いた研究は前者に含まれ、治療成績などの臨床データの解析は後者に属する。

近年、オーダーメイド医療（テーラーメイド医療ともいうが、テーラーは一般に男子服を注文でつくる仕立屋を指すものであり、筆者はあえてオーダーメイド医療の方を使うことにしている）やトランスレーショナルリサーチという言葉が盛んに用いられている。これらは基礎医学と臨床医学の垣根をなくし、双方の成果を双方向に還元することにより、達成されるものである。筆者が大学院に進学し、研究を始めた頃は動物や細胞を用いた実験が主体であった。しかし、その後の分子生物学的研究の進歩により、現在では臨床検体を比較的容易に解析することが可能である。特にPCR (polymerase chain reaction) 法が汎用されるようになり、1ヶ月も研究室で働いていれば、それなりのデータを出せるようになってきている。したがって、臨床医にとっても分子生物学的研究は比較的身近なものとなっている。このような状況において、DNAガイドラインや個人情報保護法

なども実施され、我々研究に携わるものの倫理観が強く要求されている。

泌尿器科学では、副腎・内分泌、尿路悪性腫瘍、男性生殖器悪性腫瘍、男性不妊症、アンドロロジー、尿路結石症、排尿・蓄尿障害に関する研究を、初代教授の時代から伝統的に行ってきた。誌面の都合上、ここでは前立腺癌に関する研究を例にあげながら、教室の現状と今後の展望について紹介したい。

### II. 前立腺癌の研究

表1に示したように、前立腺癌に関する研究は大きく3つの領域に分類できる。まず、発癌に関する研究であるが、SNP (single nucleotide polymorphism) 解析により、癌にかかりやすい集団のスクリーニングが試みられている。当教室においても、AR (androgen receptor) のCAG反復配列と発癌の関連性、また血中テストステロン値を含めた関連性などを解析している[1]。また海外との共同研究も積極的に行っている[2,3]。

次に、他の癌と同様、前立腺癌においても、癌の悪性度や予後診断を目的とした遺伝子解析が盛んに行われている。筆者の教室でも、既知の癌遺伝子や癌抑制遺伝子について解析を行ってきたが、決め手となるような遺伝子変化は同定されていない。前立腺癌にて癌死した症例でもp53の変異を30%程度に認めるのみであった[4]。そこで、マイクロサテライトマーカーを用いたPCR法によりLOH (loss of heterozygosity) を検索

表1 前立腺癌における遺伝子解析

発癌に関する解析	
家系解析	HPC1, HPC2, HPCX
多型性の解析	SRD5A2, ヒタミD受容体, CYP17, CYP19, IGF, GSTP1
ARの解析	点突然変異, CAG 反復配列
癌の悪性度や予後診断のための解析	
癌遺伝子	ras, myc, c-erbB-2, HPV16-E6
癌・転移抑制遺伝子	p53, PTEN/MMAC1, KLF6, KAI1, E-cadherin, $\alpha$ -catenin
遺伝子プロファイル	Microarray解析
未知の遺伝子	CGH解析, LOH解析
アンドロゲン感受性喪失の機序の解析	
ARを介する機序	点突然変異, 増幅, methylation, 増殖因子やサイトカインの異常, 転写共役因子
ARを介さない機序	アポトーシス関連遺伝子, 神経内分泌化

し、前立腺癌の発生や進展に特徴的な未知の癌抑制遺伝子の同定を試みてきた。その結果、癌抑制遺伝子の存在が予想される領域をいくつか同定できた。特に8番染色体短腕については、癌死症例の約8割で欠失を認めた。この領域は筆者の確立したラット前立腺癌モデルを用いた転移抑制遺伝子同定システムによってもその存在が示唆された領域と一致していた[5,6]。この領域からはnon coding RNAが同定されているが、海外施設と共同研究を行うことにより今後さらに解析を進めていくことになっている。

3つ目は、アンドロゲン感受性喪失の機序の解析である。前立腺癌はアンドロゲン感受性増殖を示す癌であることから、骨転移を有するような進行癌であってもその80%程度は去勢術やLH-RH (luteinizing hormone-releasing hormone) アナログ投与に良く反応し、癌は縮小し症状も軽快する。しかし、これは永久には続かず、最終的にはアンドロゲン非存在下でも増殖可能となる。すなわち治療抵抗性となり、内分泌療法開始後5年以内に70%程度が癌死に至ってしまう。このようなことから、アンドロゲン感受性喪失の機序を解明しその治療法が開発されれば、前立腺癌による癌死をくい止めることが期待できる。

筆者が大学院生として研究を開始した頃、この3つ目の研究テーマを与えられたが、現在に至ってもまだ完全には解明されていない。しかし、この間ARの塩基配列が解明され、ARに関する研究が飛躍的に進んだ。教室の鈴木らは、癌死症例から腫瘍部分のDNAを抽出しARの遺伝子解析を行った結果、点突然変異を発見した[7]。これはARのcodon 877のThrからAlaへの変異を含んでおり、後に抗アンドロゲン薬除去症候群といわれる病態の主要な原因となる遺伝子変化であることを見いだした[8]。また、ARのT877Aの変

異はその後hot spotであることがわかり、結果として1993年の鈴木らの報告が臨床検体における世界で最初のT877Aの報告例となった。

その後の研究の成果により、表1に示したとおり、アンドロゲン感受性喪失にはいくつかの機序があることがわかってきた。筆者の教室でもARに関してさらに研究をすすめており[9-12]、アンドロゲン感受性喪失の機序の解明のみでなく、治療法の確立も目指して、関連教室との共同研究を行っている。

### III. おわりに

前立腺癌は手術標本であってもどこに癌があるか肉眼ではわかりづらい。また、癌組織も均一ではなく、一つの病巣に悪性度の異なる部分が混在している。したがって、単純に癌組織を切り出して遺伝子解析を行った場合、その異常検出感度が低下してしまう。そこで、凍結切片などからlaser capture microdissection (LCM) 法を用いて均質な組織を採取し、そこからDNAを抽出して解析することが求められる。このようにして得られた高純度のDNAを必要に応じて増幅し、様々な解析を行うことにより、信頼性の高いデータを得ることが可能となる。現在、図1に示すようなシステムを構築しており、今後さらに効率性や簡便性を上げ、日常診療にも対応可能なものを目指している。それにより基礎データがさらに蓄積され、癌のアキレス腱になるような遺伝子が同定できれば、それを対象にした分子標的治療などにも

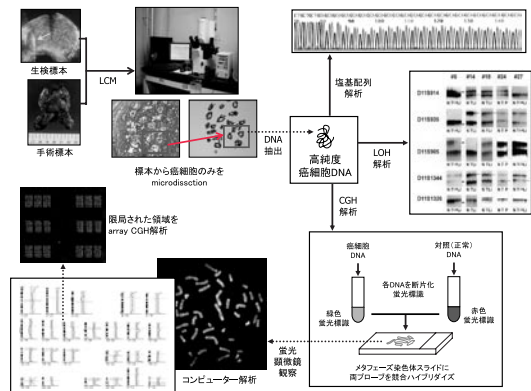


図1

応用可能である。筆者らの研究室は立ち上がって  
からまだ日が浅いが、初代教授からの成果を基盤  
とし、学内の先生方のご指導を賜りながらさらに  
発展させていきたいと思っている。

## 文 献

- 1) Imamoto T, Suzuki H, Fukasawa S, Shimbo M, Inahara M, Komiya A, Ueda T, Shiraishi T, Ichikawa T. Pretreatment serum testosterone level as a predictive factor of pathological stage in localized prostate cancer patients treated with radical prostatectomy. *Eur Urol* 2005; 47: 308-12.
- 2) Xu J, Zheng SL, Komiya A, Mychaleckyj JC, Isaacs SD, Hu JJ, Sterling D, Lange EM, Hawkins GA, Turner A, Ewing CM, Faith DA, Johnson JR, Suzuki H, Bujnovszky P, Wiley KE, DeMarzo AM, Bova GS, Chang B, Hall MC, McCullough DL, Partin AW, Kassabian VS, Carpten JD, Bailey-Wilson JE, Trent JM, Ohar J, Bleecker ER, Walsh PC, Isaacs WB, Meyers DA. Germline mutations and sequence variants of the macrophage scavenger receptor 1 gene are associated with prostate cancer risk. *Nat Genet* 2002; 32: 321-5.
- 3) Narla G, Difeo A, Reeves HL, Schaid DJ, Hirshfeld J, Hod E, Katz A, Isaacs WB, Hebring S, Komiya A, McDonnell SK, Wiley KE, Jacobsen SJ, Isaacs SD, Walsh PC, Zheng SL, Chang BL, Friedrichsen DM, Stanford JL, Ostrander EA, Chinnaiyan AM, Rubin MA, Xu J, Thibodeau SN, Friedman SL, Martignetti JA. A germline DNA polymorphism enhances alternative splicing of the KLF6 tumor suppressor gene and is associated with increased prostate cancer risk. *Cancer Res* 2005; 65: 1213-22.
- 4) Suzuki H, Komiya A, Aida S, Ito H, Yatani R, Shimazaki J. Detection of human papillomavirus DNA and p53 gene mutations in human prostate cancer. *Prostate* 1996; 28: 318-24.
- 5) Dong J-T, Lamb PW, Rinker-Schaeffer CW, Vukanovic J, Ichikawa T, Isaacs JT, Barrett JC. KAI1, a metastasis suppressor gene for prostate cancer on human chromosome 11p11.2. *Science* 1995; 268: 884-6.
- 6) Nihei N, Kouprina N, Larionov V, Oshima J, Martin GM, Ichikawa T, Barrett JC. Functional evidence for a metastasis suppressor gene for rat prostate cancer within a 60-kilobase region on human chromosome 8p21-p12. *Cancer Res* 2002; 62: 367-70.
- 7) Suzuki H, Sato N, Watabe Y, Seino S, Shimazaki J. Androgen receptor gene mutations in human prostate cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1993; 46: 759-65.
- 8) Suzuki H, Akakura K, Komiya A, Aida S, Akimoto S, Shimazaki J. Codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancer: relation to antiandrogen withdrawal syndrome. *Prostate* 1996; 29: 153-58.
- 9) Isshiki S, Akakura K, Komiya A, Suzuki H, Kamiya N, Ito H. Chromogranin a concentration as a serum marker to predict prognosis after endocrine therapy for prostate cancer. *J Urol* 2002; 167: 512-5.
- 10) Ueda T, Bruchovsky N, Sadar M. Activation of the androgen receptor N-terminal domain by interleukin-6 via MAPK and STAT3 signal transduction pathways. *J Biol Chem* 2002; 277: 7076-85.
- 11) Akakura K, Suzuki H, Ueda T, Komiya A, Ichikawa T, Igarashi T, Ito H. Possible mechanism of dexamethasone therapy for prostate cancer: suppression of circulating level of interleukin-6. *Prostate* 2003; 56: 106-9.
- 12) Kamiya N, Akakura K, Suzuki H, Isshiki S, Komiya A, Ueda T, Ito H. Pretreatment serum level of neuron specific enolase (NSE) as a prognostic factor in metastatic prostate cancer patients treated with endocrine therapy. *Eur Urol* 2003; 44: 309-14.