

氏 名	伊 夫 貴 直 和
(ふりがな)	(いぶき なおかず)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 号
学位審査年月日	平成27年1月7日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	The tyrphostin, NT157, suppresses insulin receptor substrates and augments therapeutic response of prostate cancer (新規低分子化合物である NT157 はインスリン受容体基質を抑制し前立腺癌に対する治療効果を増強する)
論文審査委員	(主) 教授 花 房 俊 昭 教授 大 道 正 英 教授 朝 日 通 雄

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

#### 《目 的》

前立腺癌は食生活の欧米化および高齢化に伴い近年増加傾向にある。転移性および局所治療再燃後の前立腺癌に対しては内分泌療法が第1選択であり、治療開始当初は著効するが、数年で治療抵抗性(去勢抵抗性前立腺癌)となる。去勢抵抗性前立腺癌(Castration resistant prostate cancer: CRPC)に対する薬物治療は、新規抗アンドロゲン剤や新規抗癌剤の登場によりこれまでのタキサン系抗癌剤に比較して治療成績は向上しているが、新規治療薬投与症例においても治療抵抗性を獲得するため新たな治療のターゲットの発見が求められている。インスリン様成長因子(Insulin-like growth factor-1: IGF-1)経路は各種癌の発育、進展に関与しており前立腺癌においても関連が指摘され、各種のIGF-1阻害剤が開発されている。インスリン受容体基質(Insulin receptor substrate: IRS)はIGF-1

経路において重要な役割を果たしており、IRS-1 は癌細胞の増殖に、IRS2 は癌細胞の運動性、および転移に関連しているという報告がある。本研究では、前立腺癌における IRS の発現、および IRS を抑制することによる前立腺癌に対する治療効果を世界で唯一の IRS を標的とする新規低分子化合物である NT157 を用いて検討した。

## 《方 法》

Tissue Microarray において、正常前立腺および前立腺癌での IRS1 および IRS2 の発現量を比較した。また、NT157 の治療効果は、アンドロゲン依存性前立腺癌モデルである LNCaP に対する去勢併用下での効果、および去勢抵抗性前立腺癌モデルである PC3 に対する単剤およびドセタキセル併用での効果を、in vitro では Growth assay、Flow cytometry、Western blotting 法によって、in vivo では LNCaP 皮下移植モデルにおける PSA 値および腫瘍体積の推移、PC3 皮下移植モデルにおける腫瘍体積の推移の測定により検討した。

## 《結 果》

前立腺癌組織における IRS1 の発現量は正常前立腺組織に比べ約 20%、IRS2 の発現量は約 2 倍増加していた。IRS1、2 ともに内分泌療法を施行されている組織では発現量は減少し、CRPC では再び発現量が増加していたことから、IRS1、2 の発現量の増加はホルモン感受性の低下および CRPC への進展に関連していると考えられた。NT157 は in vitro において LNCaP、PC3 における IRS、IGF1R、および IGF-1 経路の下流である Akt、GSK3 $\beta$  の発現を用量依存性および時間依存性に抑制していた。Growth assay では、NT157 は投与量が 5  $\mu$ M において LNCaP の細胞増殖を最大 90%以上抑制し ( $IC_{50}$ =1.4  $\mu$ M)、PC3 では最大 70%以上抑制した ( $IC_{50}$ =2.5  $\mu$ M)。Flow cytometry では LNCaP、PC3 において sub G0/G1 fraction の増加、Western blotting 法で cleaved PARP の増加が認められたことから Apoptosis を、さらに PC3 においては用量依存性に G2/M fraction の増加を認めたことから G2/M arrest を誘導していると考えられた。細胞周期に関わる蛋白の発現にも相関関係を認めた。また、in vivo においては LNCaP の増殖を去勢との併用で、腫瘍

体積増加率 ( $\text{mm}^3/\text{day}$ ) が Vehicle 群では 129.5、NT157 群では 3.5 と約 35 倍の差を認めた。PC3 の移植では単剤およびドセタキセルとの併用で、腫瘍体積増加率 ( $\text{mm}^3/\text{day}$ ) はそれぞれ Vehicle 群 : 387.2、NT157 単独 : 106.4、ドセタキセル群 : 87.7、併用群 : 12.5 と単剤でも効果を認め、併用群では Vehicle 群と比べ約 30 倍の差を認めておりドセタキセルとの併用での相乗効果があると考えられた。また、Vehicle 投与群および NT157 投与群では体重の変化は認めなかった。摘出標本の免疫染色では Vehicle 群に比べて NT157 治療群で PY-IGF1R、IRS1、IRS2、および Ki67 の発現量は低下しており、蛋白および mRNA レベルでも NT157 投与群で PY-IGF1R、IRS1、IRS2 が低下していた。以上より NT157 は IRS1、2 を介した IGF-1 経路を阻害することにより抗腫瘍効果を発揮していることを確認した。

#### 《結 論》

IRS1、2 は前立腺癌の発生および各種治療に対する抵抗性獲得との関連を認めており、IRS を標的とする新規低分子化合物 NT157 は、今後前立腺癌に対する有望な治療法になりえると考えられた。

(様式 甲 6)

## 論文審査結果の要旨

進行性前立腺癌に対する内分泌療法（アンドロゲン遮断療法）は、有効な治療成績を挙げている。しかし、多くの症例で数年の経過において治療抵抗性となり去勢抵抗性前立腺癌の状態となる。去勢抵抗性前立腺癌の治療は、従来は全身化学療法（ドセタキセル）のみであったが、新規アンドロゲン遮断薬の登場で治療成績の向上を認めている。ただし、新規アンドロゲン遮断薬においてもその後治療抵抗性を獲得するため新たな治療標的の開発が求められている。本研究では前立腺癌の進展に関与すると言われている Growth hormone/insulin-like growth factor-I (GH/IGF-I) 系の受容体基質である Insulin receptor substrate (IRS)に着目している。IRS のヒト前立腺癌組織（未治療、短期および長期内分泌療法、去勢抵抗性前立腺癌）での発現量が検討されており、前立腺癌の進展と IRS の関連が示唆されている。実験系としては、IRS を標的とする分子標的治療薬である NT157 を用いてアンドロゲン依存性前立腺癌モデルである LNCaP に対する去勢併用下での治療効果、および去勢抵抗性前立腺癌モデルである PC3 に対する単剤およびドセタキセル併用での治療効果を *in vitro*、および *in vivo* で検討されている。いずれにおいても NT157 は治療効果を認めており、今後 IRS をターゲットとした前立腺癌治療を開発および臨床応用していく上で、本研究は有意義な結果を示していると考えられる。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Molecular Cancer Therapeutics 13(12): 2827-2839, 2014