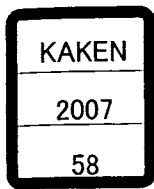


前立腺癌アンドロゲン応答性増殖・浸潤転移関連遺伝子の同定、および治療への応用

著者	溝上 敦
雑誌名	平成18(2006)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2005-2006
ページ	5p.
発行年	2007-04-01
URL	http://hdl.handle.net/2297/47535



前立腺癌アンドロゲン応答性増殖・浸潤 転移関連遺伝子の同定、および治療への応用

研究課題番号：17591669

平成17年度～平成18年度 科学研究費補助金（基盤研究（C））
研究成果報告書

金沢大学附属図書館



0800-16246-3

平成19年4月

研究代表者 溝 上 敦

（金沢大学医学部附属病院 講師）



金沢大学図書館

<はしがき>

研究課題名：前立腺癌アンドロゲン応答性増殖・浸潤転移関連遺伝子の同定、および治療への応用

研究組織

研究代表者： 溝上 敦（金沢大学医学部附属病院 講師）
研究分担者： 並木 幹夫（金沢大学・医学系研究科 教授）
研究分担者： 角野 佳史（金沢大学・医学系研究科 助手）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	1,900,000	0	1,900,000
平成18年度	1,600,000	0	1,600,000
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究発表

学会誌

YOICHI IWASA, ATSUSHI MIZOKAMI, SOTARO MIWA, KIYOSHI KOSHIDA AND MIKIO NAMIKI. Establishment and characterization of androgen-independent human prostate cancer cell lines, LN-REC4 and LNCaP-SF, from LNCaP. International Journal of Urology, 14,233-239 2007

論文発表

YOICHI IWASA, ATSUSHI MIZOKAMI, SOTARO MIWA, KIYOSHI KOSHIDA
AND MIKIO NAMIKI. Establishment and characterization of androgen-independent
human prostate cancer cell lines, LN-REC4 and LNCaP-SF, from LNCaP. *International
Journal of Urology*, 14,233-239 2007

研究成果

1. アンドロゲン依存性増殖を示す培養細胞 LNCaP からアンドロゲン非依存性増殖を示す培養細胞 LN-REC4 と LNCaP-SF の樹立

我々はアンドロゲン感受性細胞株 LNCaP を用いて 2 種類の再燃前立腺癌細胞株 LN-REC4 と LNCaP-SF を樹立した。これらの細胞は *in vivo* において intact のオス mouse よりも castration した scid mouse の皮下で増殖が促進された。

まず、これらの細胞株の characterization を行った。(論文 1)

2. LNCaP と LNCaP-SF の characterization

① アンドロゲン感受性前立腺癌細胞 LNCaP はアンドロゲン 10 nM DHT (生理的 アンドロゲン濃度) により増殖が促進されるが、アンドロゲンに対する応答性の変化した LNCaP-SF では増殖は 10 nM DHT によりむしろ抑制され、低アンドロゲン濃度により増殖が促進される。10 nM DHT をそれぞれの細胞に添加 24 時間後、あるいは無添加 24 時間後に total RNA を抽出する。これらの RNA の quality 確認のために、RNA から逆転写酵素をもちいて cDNA を合成し、house keeping gene の GAPDH、 β -actin の発現量に違いがないかを RT-PCR にて確認する。また、LNCaP で代表的な遺伝子 (アンドロゲン受容体、PSA) の発現の違いの有無も確認する。(研究代表者が行う)

② DHT の有無で発現の変化する遺伝子を cDNA micro array を用いてそれぞれの細胞において同定する。(研究代表者が行う)

③ LNCaP 細胞と LNCaP-SF 細胞で共に DHT により発現が亢進する遺伝子・低下する遺伝子、LNCaP-SF 細胞で発現が亢進するが、LNCaP で発現が変わらないか、逆に低下する遺伝子、LNCaP-SF で発現が低下し、LNCaP で発現が逆に亢進する遺伝子などを検索する。さらに Medline により既知の遺伝子、未知の遺伝子かどうかを確認する。

(発現の変化する遺伝子は少なくとも 200 以上あると推測されるため、研究代表者と分担者が共同で行う)

④ それらの遺伝子に関して、Medline を用いて Genebank からそれらの遺伝子配列を入手する。プライマーを合成し、cDNA array の際に用いた RNA を使って

再び RT-PCR にて発現の違いを確認し、artifact なのか本当に DHT で発現の変化した遺伝子なのか明らかにする。さらにもう一度 LNCaP と LNCaP-SF で DHT による刺激を行い、RNA 抽出、RT-PCR を行って再現性があるかどうかを確認し、それぞれの細胞で確実に発現パターンの異なる遺伝子を決定する。

- ⑤ 同様にしてアンドロゲン受容体のないホルモン非依存性前立腺癌細胞株 PC-3 と DU145 でも発現がどのようになっているかを確認する。
- ⑥ 既知の遺伝子の場合、文献等によりその機能を推測し、増殖・PSA 発現・浸潤・転移に関係あると考えられる遺伝子の full-length open reading frame を含む cDNA を RT-PCR によって増幅する。
- ⑦ さらに、それらの cDNA を動物細胞発現ベクターに subcloning し、sequence を確認する。
- ⑧ DHT によって発現が誘導される遺伝子の場合、これらの遺伝子を LNCaP で強制発現させた細胞株を樹立する。
- ⑨ また、その遺伝子配列から発現を抑制させることのできる iRNA を合成し、DHT で発現を誘導する際に iRNA を培地に加えたり、iRNA 強制発現プラスミド作成し、細胞を形質転換することによってその発現上昇を抑えることができるかどうかを確認する。
(①～⑨は研究代表者と分担者が共同で行う)
- ⑩ これらの遺伝子の機能を評価する方法としては、過剰発現させた細胞株や発現を iRNA で抑制させた細胞株を用いて、増殖・PSA 発現・浸潤・転移にどのように影響を与えるかで判断する。