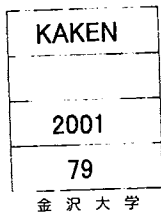


前立腺癌の局所進展に関わる因子: 神経浸潤とリンパ行性転移の分子生物学的解析

著者	越田 潔
著者別表示	Koshida Kiyoshi
雑誌名	平成13(2001)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2000-2001
ページ	9p.
発行年	2002-03
URL	http://doi.org/10.24517/00049349





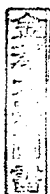
前立腺癌の局所進展に関わる因子：
神経浸潤とリンパ行性転移の分子生物学的解析

研究課題番号：12671523

平成12～13年度 科学研究費補助金 (基盤研究C)
研究成果報告書

平成14年3月

研究代表者 越田 潔 助教授
(金沢大学大学院医学系研究科・がん医科学・集学的治療学)



著 者 寄 贈

KAKEN
241
79

研究課題

前立腺癌の局所進展に関わる因子：神経浸潤とリンパ行性転移の
分子生物学的解析

研究組織

研究代表者	越田 潔	(金沢大学医学部 助教授)
研究分担者	横山 修	(金沢大学医学部 講師)
	横山 邦彦	(金沢大学医学部 講師)

交付決定額（配分額）

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成12年度	2,500	0	2,500
平成13年度	900	0	900
総計	3,400	0	3,400

研究発表

(1) 論文発表

K. Koshida, T. Imao, O. Yokoyama, K. Yokoyama, A. Mizokami, M. Namiki: Comparison of two in vivo models for prostate cancer: orthotopic and intratesticular inoculation of LNCaP or PC-3 cells. submitted to J Urol.

(2) 学会発表

K. Koshida, T. Imao, O. Yokoyama, K. Yokoyama, A. Mizokami, M. Namiki: Comparison of two in vivo models for prostate cancer: orthotopic and intratesticular inoculation of LNCaP or PC-3 cells. 26th WORLD CONGRESS OF THE SOCIETE INTERNATIONALE D'UROLOGIE (平成14年9月予定)

研究成果

実験 1 : ヒト前立腺癌転移モデルの確立

【材料と方法】ヒト前立腺癌細胞株： 10^6 個の LNCaP あるいは PC-3 を SCID マウスの精巣および前立腺に注入し、腫瘍の増殖能および転移能について検討した。

【結果】 LNCaP においては intratesticular model のほうが高い造腫瘍能、リンパ節転移能を示した。一方 PC-3 細胞では両モデルとも高い造腫瘍能、リンパ節転移能を示した (Table 1)。

Table 1

Incidence of lymph node metastasis 12 weeks after implantation
by intratesticular inoculation

Cell line	Period	Tumor formation	Metastasis
LNCaP	12w	8/8(100%)	4/8(50%)
PC-3	12w	6/6(100%)	5/6(83%)

by orthotopic inoculation

Cell line	Period	Tumor formation	Metastasis
LNCaP	12w	5/10(50%)	1/5(20%)
PC-3	12w	6/6(100%)	6/6(100%)

実験 2 : In vitroにおけるアンドロゲンの影響

【材料と方法】これらの細胞株において種々の増殖・転移関連因子の発現に対するアンドロゲン(DHT)の影響について RT-PCR 法を用いて検討した。

【結果】LNCaPにおいてはDHTの添加により integrin α V, VEGF の発現の増強が認められたが、PC-3 においては変化は認められなかった (Figure 1)。

実験 3 : In vivoにおけるアンドロゲンの影響

【材料と方法】in vivoにおけるアンドロゲン(DHT)の影響について検討するために、精巣移植モデルにおいて増殖・転移関連因子の発現を経時的に検討した。

【結果】LNCaPにおいては移植後3日まで integrin α V, VEGF の発現の増強が認められたが、PC-3 では移植後7日までその発現は継続した。VEGF-C の発現は、PC-3 では14日まで持続していたが、LNCaP ではほとんど認められなかった (Figure 2)。

実験 4 : In vivoモデルにおける移植腫瘍および転移巣での転移関連因子の発現

【材料と方法】 intratesticular inoculation model, orthotopic inoculation modelにおける前立腺、精巣移植腫瘍およびそれらのリンパ節転移巣での転移関連因子の発現を検討した。

【結果】転移関連因子 (uPA system, MMPs) はPC-3において強く発現しており、LNCaPにおいては細胞接着因子である E-cadherin の発現が認められた。VEGF-C の発現は、PC-3 では移植腫瘍、リンパ節転移巣とも増強していたが、LNCaPではほとんど認められなかった (Figure 3)。

実験 5 : LNCaP におけるアンドロゲン非依存性の獲得

【材料と方法】 精巣移植腫瘍の一部を雄、雌マウスの背部皮下に移植し、造腫瘍能を検討した。

【結果】 雄背部で増殖が始まると、除睾術を施行してもその増殖速度に変化は認められず、また雌背部においても移植後数カ月で造腫瘍能が確認された (Figure 4)。

実験 6 : ヒト前立腺癌細胞株における neurotrophic factor の発現

【材料と方法】 ヒト前立腺癌細胞株 (LNCaP, PC-3, DU145, TSUPR) を用いて neurotrophic factor : NGF, bFGF, NT3 の mRNA 発現について検討した。

【結果】 NGF はすべての細胞株で発現が認められたのに対し、bFGF の発現は PC-3, DU145, TSUPR で、また NT3 の発現は PC-3, DU145 で強い傾向にあった (Figure 5)。

実験 7 : orthotopic model におけるヒト前立腺癌細胞の神経浸潤

【材料と方法】 orthotopic inoculation model を作製し、マウス前立腺内の神経組織との関わりについて組織学的に検討した。

【結果】 DU145 のみに神経組織への浸潤像が観察された (Figure 6)。

一方、臨床検体を用いた免疫組織化学的検討では、これらの factor のなかで NGF の強発現が神経組織周囲へ浸潤する癌細胞において確認された。またリンパ節転移の有無と angiogenic factor (VEGF-C) の発現との間に有意な相関は認められなかった。以上の結果から前立腺癌の局所進展すなわち神経浸潤およびリンパ節転移に関わる因子として動物実験においていくつかの因子の関わりが想定された。しかしこれらの因子の臨床検体における関与は必ずしも有意とは言えず、今後の検討課題と考えられた。

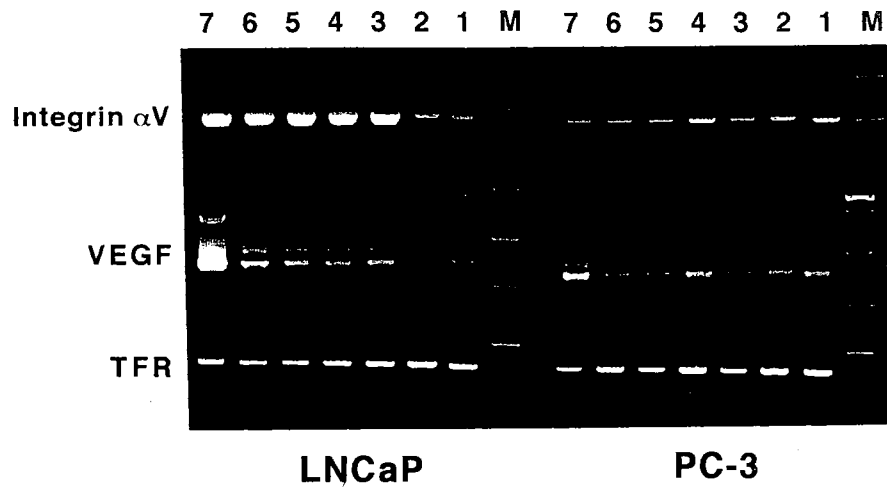


Figure 1
Effect of dihydrotestosterone on expression of angiogenesis-related genes in vitro. Concentrations of DHT are 0 (lane 1), 1 nM (lane 2), 10 nM (lane 3), 100 nM (lane 4), 1 μM (lane 5), 10 μM (lane 6), 100 μM (lane 7). M, molecular weight size marker.

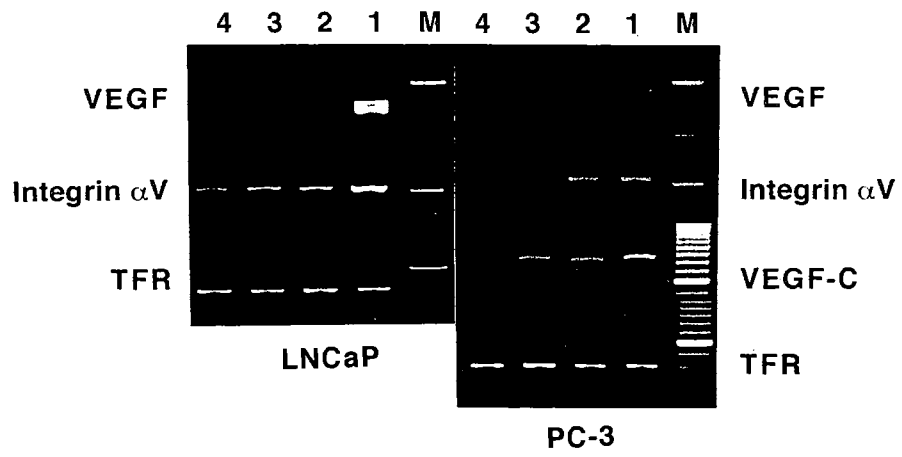


Figure 2
Changes in expression of angiogenesis-related genes following intratesticular inoculation. Periods after inoculation are 3 days (lane 1), 7 days (lane 2), 14 days (lane 3), and cells in vitro (lane 4).

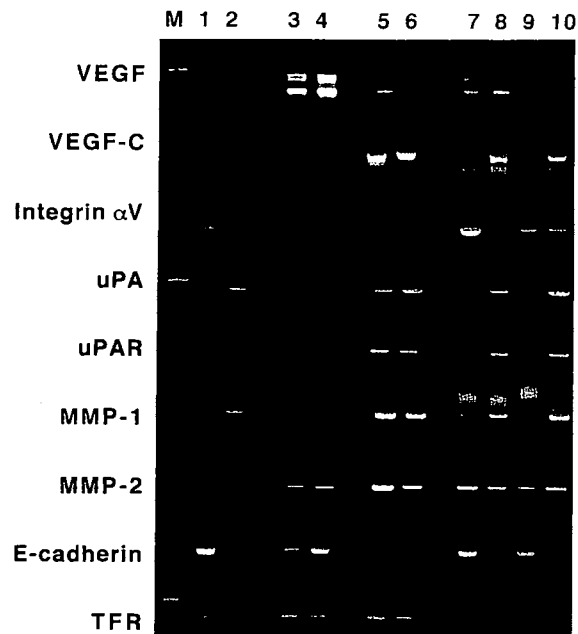


Figure 3

Expression of metastasis-related genes in orthotopic or intratesticular xenografts of human prostate cancer. Lanes 1 and 2: LNCaP and PC-3 in vitro, lanes 3 and 4: LNCaP in prostate, lanes 5 and 6: PC-3 in prostate and its lymph node metastasis, lanes 7 and 8: LNCaP and PC-3 in testis, lanes 9 and 10: LNCaP and PC-3 in lymph node metastasis. Materials from the in vivo models were taken at 12 weeks after implantation.

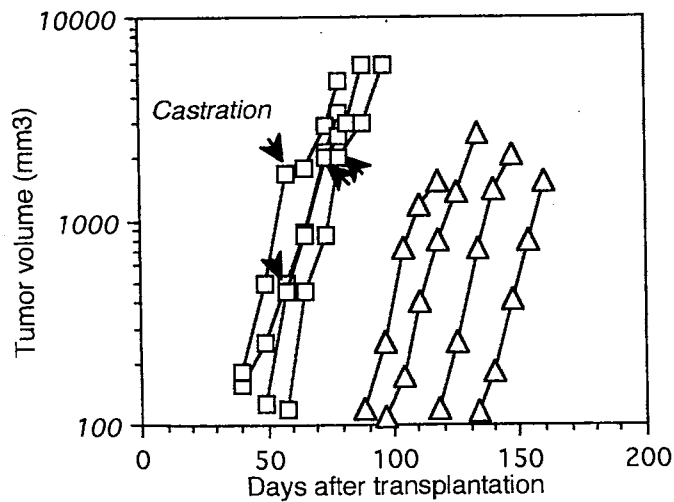


Figure 4

Growth curves of subcutaneous xenografts transplanted from testicular xenografts of LNCaP. Male (\square) and female (Δ) mice. Castration was performed at the time indicated arrows.

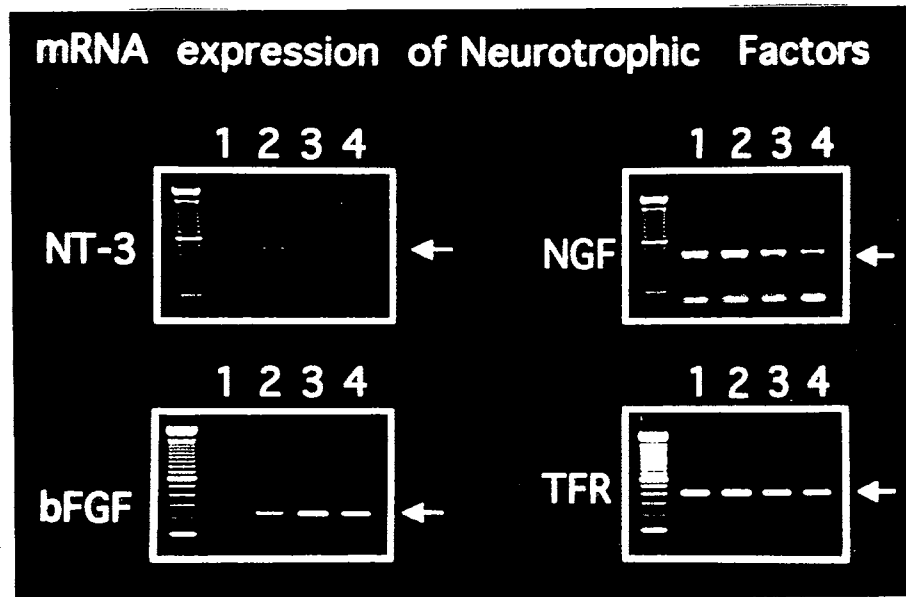


Figure 5
Expression of Neurotrophic factors in prostate cancer cells

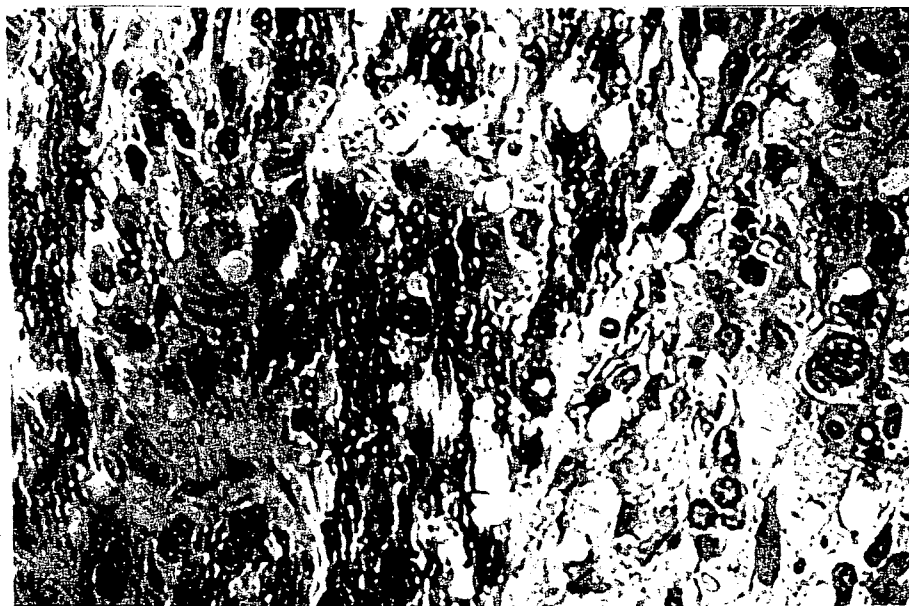


Figure 6
Cancer infiltration to nerve plexus in orthotopic model
 DU145 cells infiltrate into the nerve plexus where Schwann cells are stained by S-100.