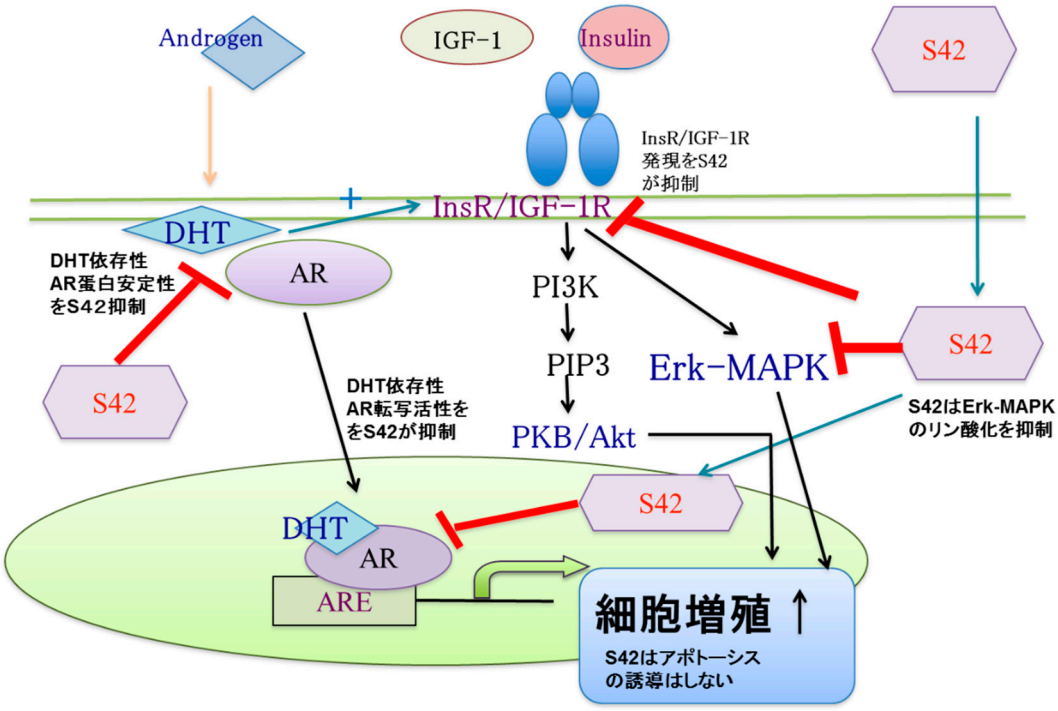
94　新規SARM、S42の作用に関する基盤的研究	柳瀬　敏彦

【目的】我々自身が同定した新規 SARMS42 の抗前立腺癌作用と筋管細胞への作用に関する研究を行った。S42 は去勢感受性（アンドロゲン感受性）のヒト前立腺癌細胞株である LNCaP 細胞と 22RV1 細胞の増殖を抑制した。機序として、AR の DHT 依存性の転写活性の抑制のほか、AR の蛋白発現量を抑制することを明らかにした。前立腺癌は IGF-1 やインスリンシグナルによってその増殖が促進されるが、S42 は そのシグナルの入り口である IGF-1 受容体（IGF-1R）やインスリン受容体β（IRβ）の蛋白発現を抑制することも判明した。さらに S42 は前立腺癌の増殖シグナルとして重要な Erk-MAPK のリン酸化を抑制した。一方、S42 にはアポトーシス誘導効果は認めなかった。CAG-LucLNCaP 細胞をヌードマウスに播種し S42 を投与すると、腫瘍形成抑制効果が観察された。S42 は前立腺癌細胞増殖抑制とアンチメタボ効果を有する化合物である可能性が示唆された。S42 は培養筋管細胞（C2C12）の筋萎縮関連遺伝子の Atrogin1 と MuRF1 の有意な発現低下をもたらし、骨格筋のタンパク合成促進に重要である P70S6K のリン酸化レベルを亢進させた。S42 は筋の蛋白異化に抑制的に、蛋白合成に促進的に作用する可能性が示唆された。S42 は IGF-1-Akt 経路や ERK 経路とは独立して、mTORC1-p70S6K 経路を活性化することで蛋白同化作用を発揮すると考えられた。S42 は高齢化社会に向けて、サルコペニア治療薬となる可能性が示唆された。

S42 は種々の機序を介して前立腺癌細胞増殖を抑制する



94. 新規 SARM、S42 の作用に関する基盤的研究

柳瀬　敏彦

*福岡大学 医学部 内分泌・糖尿病内科

Key words：アンドロゲン，選択的アンドロゲン受容体修飾剤，前立腺癌，骨格筋細胞

緒　言

生活習慣病の発症要因としてのテストステロン（T）-AR 系の重要性が注目されている。T の抗メタボリックシンドローム（MetS）作用を保持しつつ、前立腺刺激作用を示さない選択的アンドロゲン受容体修飾剤（selective androgen receptor modulator, SARM）の探索研究を行った結果、T 誘導体の S42 を同定した。S42 は精巣摘出ラットへの投与で、前立腺重量の増加を示さず、血中中性脂肪の顕著な減少効果と骨格筋量増加作用を示した［1］（2015 年 8 月 特許取得 P5789874）。SARM 開発は高齢化社会において、サルコペニア、骨粗鬆症、糖尿病等を標的とする新たな生活習慣病創薬の観点から期待されており、全世界的にその開発研究が進められているが、現在、市場に出ている薬剤は皆無である。これらの研究背景や成果を踏まえて、本申請研究では、高齢者や中高年男性をターゲットとする生活習慣病治療創薬としての SARM・S42 の基盤的研究により、その多面的作用と機序を解明することを目的として研究を行った。本研究では S42 の抗前立腺癌作用と骨格筋細胞に対する影響の 2 つの点に焦点を当てて研究を行った。

方法および結果

1. **S42 の抗前立腺癌作用に関する研究**
   S42 の前立腺癌細胞株の細胞増殖抑制効果並びにヌードマウスに移植した前立腺癌の腫瘍増殖抑制の効果を検討した。前立腺癌細胞株（LNCap 細胞等）の細胞増殖の抑制効果を DHT 刺激下あるいは非刺激下の条件で、細胞増殖アッセイキット並びに BrDU assay を用いて行うと同時にアポトーシスの有無も TUNNEL assay にて検討した。次にヌードマウス（オス）に前立腺癌細胞株を播種し、S42 を投与し、腫瘍サイズの変化に及ぼす効果を検討した。その際、前立腺癌細胞株に *CAG-Luc* 遺伝子が導入された細胞を播種することで、壊死組織でない腫瘍そのものの増殖を可視化あるいは定量評価できる系を用いた。
2. **新規 SARM・S42 の筋管細胞への作用に関する研究**
   筋芽細胞の C2C12 細胞を細胞培養系で筋管細胞に分化誘導後、ジヒドロテストステロン（DHT）を対照として、S42 の筋蛋白の同化関連分子、異化関連分子への影響を RT-PCR による mRNA 発現量やウエスタンブロットによる蛋白発現量の変化で検討した。

*現在の所属：誠和会 牟田病院

1. S42 の抗前立腺癌作用に関する研究

前立腺癌はアンドロゲン-アンドロゲン受容体（AR）の刺激に反応して増殖する。S42 は去勢感受性（アンドロゲン感受性）のヒト前立腺癌細胞株である LNCaP 細胞と 22RV1 細胞の増殖を抑制した。機序として、AR の DHT 依存性の転写活性の抑制のほか、AR の発現量そのものも蛋白レベルで抑制することを明らかにした。また、前立腺癌は、IGF-1 やインスリンシグナルによってその増殖が促進されることが知られている。S42 はそのシグナルの入り口である IGF-1 受容体（IGF-1R）やインスリン受容体β（IRβ）の発現を蛋白レベルで抑制することも判明した。さらに S42 は前立腺癌の増殖シグナルとして重要な extracellular signal–regulated kinase（ERK）–mitogen-activated protein kinase（MAPK）(Erk-MAPK）のリン酸化の抑制機序を認めることや、S42 は DHT-AR のクロマチンへの結合抑制を介して作用することも ChIP アッセイによって明らかにした。一方、S42 にはアポトーシス誘導効果は認めなかった。CAG-LucLNCaP 細胞をヌードマウスに播種し S42 を投与すると、腫瘍形成抑制効果が観察された。腫瘍では S42 によって前立腺癌特異的抗原である P504S や細胞増殖マーカーの Ki67、リン酸化 ERK-MAPK、AR、IGF-1R、IRβ の発現抑制を認めた。S42 は、AR 発現レベルが高い LNCaP 細胞および 22RV1 細胞に対して著しい増抑制効果を示し、その効果は、DHT 無添加時より DHT 依存性の細胞増殖においてより顕著であった。これらの知見は、S42 が *in vitro* で DHT 依存性の AR 活性化に拮抗するという我々の以前の基礎的データとも合致した［1］。S42 の効果が AR に依存していることは、LNCaP 細胞の増殖および DNA 合成に対する S42 の抑制効果が、AR の siRNA 媒介ノックダウンによってほぼ完全にキャンセルされたことからも裏付けられた。図 1 にこれらの機序を要約した。我々は動物実験において S42 が代謝面でも抗肥満効果を有する可能性を観察しており（未発表データ）、S42 は前立腺癌細胞増殖抑制とアンチメタボ効果を有する化合物である可能性が示唆された。以上の成果は［2］に掲載された。

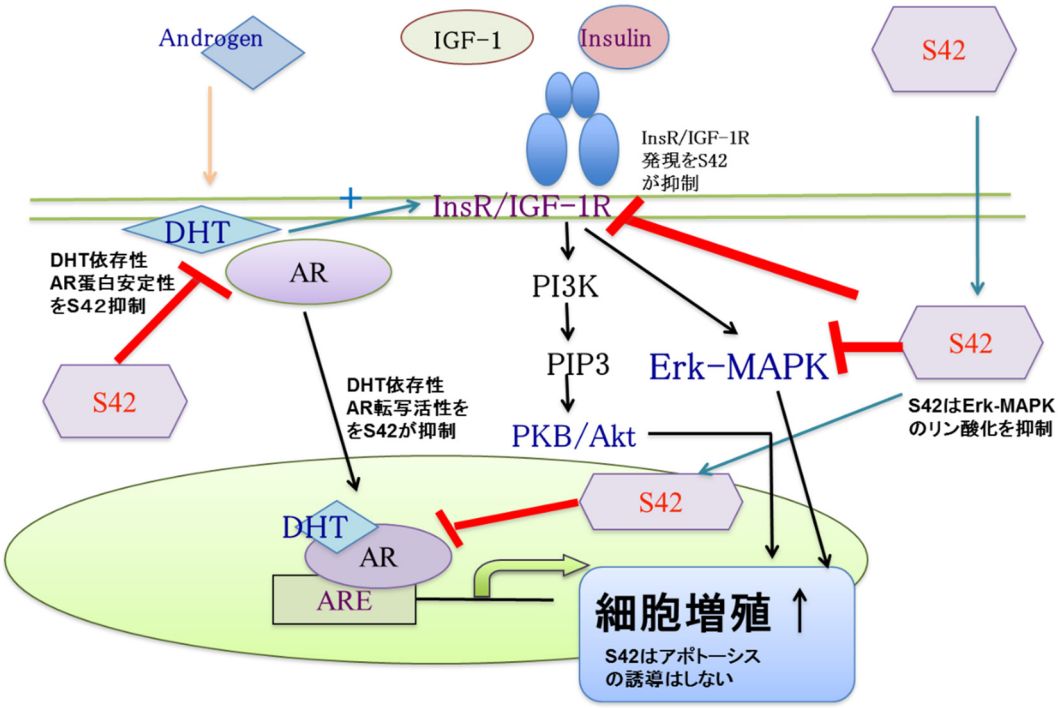


図 1. S42 は種々の機序を介して前立腺癌細胞増殖を抑制する

2. 新規 SARM・S42 の筋管細胞への作用に関する研究

S42 の培養筋管細胞（C2C12）における効果を検討したところ、S42 は骨格筋ユビキチンリガーゼ（筋萎縮関連遺伝子）の Atrogin1 と MuRF1 の有意な発現低下をもたらし、骨格筋のタンパク合成促進に重要である P70S6K のリン酸化レベルを亢進させた。S42 は筋の蛋白異化に抑制的に、蛋白合成に促進的に作用する可能性が示唆された。P70S6K のリン酸化は筋蛋白の同化作用に重要な mTORC1 の下流に位置するが、重要なことに今回の研究で、mTORC1 阻害剤のラパマイシンで P70S6K のリン酸化はキャンセルされた。筋蛋白の同化作用は、IGF-1-Akt シグナリングや ERK 経路の活性化によってももたらされるが、今回の我々の検討では、これら二つの系は介していないことが示された。S42 は　IGF-1-Akt 経路や ERK 経路とは独立して、mTORC1-p70S6K 経路を活性化することで、蛋白同化作用を発揮すると考えられた。S42 は高齢化社会に向けて、サルコペニア治療薬となる可能性が示唆された。上記の結果は［3］に掲載された。

共同研究者・謝辞

本研究の主な共同研究者は、福岡大学医学部内分泌糖尿病内科の牟田芳美氏、川波賢子氏、田中智子氏、濱口百合子氏、田邉真紀人氏、野見山崇氏と誠和会牟田病院の名和田新氏である。ここに深謝申し上げる。

文　献

1) Min L,YanaseT,TanakaT,FanW,NomuraM,KawateH,Okabe T, Takayanagi R, Nawata H. A novel synthetic androgen receptor ligand, S42, works as a selective androgen receptor modulator and possesses metabolic effects with little impact on the prostate. Endocrinology 2009;150(12):5606–5616. PMID: 19854864 PDOI: 10.1210/en.2009-0405

2) Kawanami T, Tanaka T, Hamaguchi Y, Nomiyama T, Nawata H, Yanase T Selective androgen receptor modulator S42 suppresses prostate cancer cell proliferation. Endocrinology 2018;159（4）:1774-1792. PMID: 29444261 DOI: 10.1210/en.2018-00099

3) Muta Y, Tanaka T, Hamaguchi Y, Hamanoue N, Motonaga R, Tanabe M, Nomiyama T, Nawata H, Yanase T. Selective androgen receptor modulator, S42 has anabolic and anti-catabolic effects on cultured myotubes. Biochem Biophys Rep 2019;17:177-181 PMID: 30705972 DOI: 10.1016/j.bbrep.2019.01.006