

京都大学	博士（医学）	氏 名	清水 洋祐
論文題目	SPA-1 controls the invasion and metastasis of human prostate cancer (SPA-1 はヒト前立腺癌の浸潤及び転移を制御する)		
(論文内容の要旨)			
（概略）PSA 検診の普及に伴い、前立腺癌は早期発見早期治療が可能となり限局性癌においては生命予後は比較的良好であるが、初診時に転移を認める進行性前立腺癌においては標準療法であるアンドロゲン除去療法を行っても約2年で「ホルモン不応性前立腺癌」に移行し、その後、急速に増悪し、平均約1年で癌死するに至る。従って、前立腺癌の転移機序の解明は急務である。 Ras family である small G protein Rap1 のGAP活性を有する蛋白をコードする遺伝子 <i>SPA-1</i> の遺伝子多型が乳癌マウスモデルの転移に関与し、実際に同遺伝子を RNA 阻害すると肺転移数が減少することが報告された。乳癌と前立腺癌は、その臨床的特徴が類似することが知られているため、ヒト前立腺癌の転移機序における SPA-1 蛋白の関与を検討した。 （方法および結果）前立腺癌 94 症例の針生検標本において SPA-1 蛋白の発現を免疫組織学的染色により解析したところ、SPA-1 蛋白の発現と悪性度および臨床病期には正の相関を認めた。 ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP 及び PC3 において SPA-1 蛋白の発現を WB 法にて解析したところ、PC3 細胞では内因性 SPA-1 蛋白が高発現しており、マウス精巣に移植したところ所属リンパ節に転移を認めた。一方、内因性 SPA-1 蛋白の発現を認めない LNCaP 細胞は、同様の実験にて転移を認めなかった。以上より SPA-1 蛋白が前立腺癌の転移機構に関与している可能性が示唆された。 LNCaP 細胞に SPA-1 蛋白を安定発現させた LNCaP/SPA-1 細胞ではコントロール細胞に比べ Rap1 の活性は低下し転移能を獲得した。 また、PC3 細胞において SPA-1 蛋白の発現を RNA 阻害した PC3/shSPA-1 細胞ではコントロール細胞に比べ Rap1 の活性は上昇し転移能は低下した。PC3 細胞に constitutive active form の Rap1 変異蛋白 (RapV12) を強制発現させた PC3/Rap1V12 細胞ではコントロール細胞に比べ Rap1 の活性は上昇し転移能は低下した。以上より SPA-1-Rap1 シグナルが前立腺癌の転移に重要な役割をはたしている可能性が示唆された。 LNCaP/SPA-1 細胞を用いて各種細胞外マトリックスとの接着能や発現に関して検討した。LNCaP/SPA-1 細胞ではコントロール細胞に比べコラーゲンⅠ、コラーゲンⅣ、フィブロネクチンとの接着能の低下を認め、フィブロネクチンやインテグリンα1などの発現が低下していた。細胞外マトリックスの発現を制御する Brd4 蛋白は SPA-1 蛋白と直接結合することが知られているが、Brd4 蛋白の核内における発現は LNCaP/SPA-1 細胞にて低下を認めた。 （考察）ヒト前立腺癌において、SPA-1 蛋白は Rap1 の活性を介し転移能を制御していると考えられた。そのメカニズムには細胞外マトリックスとの接着や発現が一部関与している可能性が示唆された。SPA-1 蛋白の発現解析を行うことにより将来的に転移を来たしやすい high risk group を予測し、術後の局所への放射線治療などのアジュバント治療を早期に行う指標となり、本邦において最も増加傾向にある前立腺癌の死亡率の改善に寄与する可能性があると考えられる。			

（論文審査の結果の要旨） 転移のある進行性前立腺癌はホルモン療法を施行しても約3年で癌死に至る。したがって前立腺癌予後改善のためには転移機序の解明は急務である。ホルモン感受性などの点で、乳癌と前立腺癌は臨床的特徴が類似しているが、本研究ではマウス乳癌モデルでの発現阻害にて転移数が減少することが報告された Small G protein Rap1 の GAP 活性を有する SPA-1 遺伝子に着目し、ヒト前立腺癌の転移機序における SPA-1 の関与を検討した。まず、前立腺癌症例の SPA-1 の発現を免疫組織学的染色にて解析した結果、SPA-1 の発現と悪性度及び臨床病期に正の相関を認めた。ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP 及び PC3 細胞で SPA-1 の発現を WB 法にて解析したところ、高転移能の PC3 では SPA-1 の強発現と Rap1 活性の低下を認め、マウス精巣への移植にてリンパ節転移を認めた。一方、SPA-1 の発現を認めない LNCaP では転移巣を認めなかった。同細胞に SPA-1 を強制発現させた（LNCaP/SPA-1）ところ転移能を獲得した。一方、PC3 において SPA-1 蛋白の発現を RNA 阻害したところ Rap1 活性の上昇を認め転移能が低下した。また、PC3 に恒常活性型 Rap1 変異蛋白を強制発現させたところ転移能が低下した。Rap1 が細胞接着を制御することから、LNCaP/SPA-1 にて細胞外マトリックス（ECM）との接着能を検討した。同細胞ではコントロール細胞に比べ ECM との接着能の低下を認め、ECM の発現を制御する転写因子 Brd4 蛋白の核内における発現が低下した。以上より、ヒト前立腺癌において SPA-1 は Rap1 の活性を介し転移能を制御し、メカニズムのひとつとして ECM との接着が関与している可能性が示唆された。 以上の研究は、限局性前立腺癌治療後の癌転移を予測する診断標的分子の解明に貢献し、本邦において最も増加傾向にある前立腺癌の治療成績の向上に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 5 月 23 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			