

京都大学	博士（	医 学）	氏 名	小 林 恭
論文題目	Activation of Rac1 is closely related to androgen-independent cell proliferation of prostate cancer cells both in vitro and in vivo. (Rac1 の活性化は前立腺癌細胞のアンドロゲン非依存性増殖と密接に関連する)			
（論文内容の要旨） （概略）前立腺癌細胞はアンドロゲン依存性に増殖するが、その詳細な分子機構は未だ不明である。また、内分泌療法後に再燃を来たしてくる去勢抵抗性癌（Castration-resistant prostate cancer: CRPC）の発生機序も未だ明らかにされていないため、CRPC に対する治療法は限られておりその予後はきわめて不良である。このため前立腺癌のアンドロゲン依存性増殖機構および非依存性獲得機序を明らかにし、それに基づく新規治療戦略を開発することが急務である。アンドロゲン依存性ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP において atypical PKC (aPKC)-S6 kinase (S6K) 経路が前立腺癌細胞の増殖に重要な役割を果たしていることが報告されているが、その上流の制御機構は不明であった。本研究では aPKC-S6K 経路の上流に位置しこれを制御していると考えられるシグナル伝達分子に関してヒト前立腺癌細胞株を用いて検討を行った。 （方法および結果）LNCaP 細胞においてアンドロゲン依存性に活性化されると報告されている cSrc および、aPKC-S6K 経路を活性化すると報告されている低分子量 G タンパクのひとつである Rac1 の発現・活性を pull-down assay および Western blotting 法で解析したところ、両者の活性はアンドロゲン依存性を示し、よく相関した。また、cSrc の阻害によって Rac1 および aPKC-S6K 経路の活性低下を認めた一法、Rac1 の阻害によっては cSrc の活性低下を伴わない aPKC-S6K 経路の活性低下を認めたため、cSrc-Rac1 経路は aPKC-S6K 経路の上流制御機構であると考えられた。また、Rac1 の活性はアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 PC3・DU145 などでは aPKC-S6K 経路と同様に恒常的に亢進していた。LNCaP 細胞に恒常的活性型の Rac1（Rac1V12）を導入することでアンドロゲン非依存性増殖能が獲得される一方、Rac1 の阻害によって LNCaP・PC3・DU145 などにおいて S6K の活性低下・増殖抑制がみられた。ヒト前立腺癌組織を用いた免疫組織学的検討では cSrc、Rac1 の代表的標的分子である Pak1、および aPKC の活性型（リン酸化）フォームの発現は良性前立腺上皮細胞、アンドロゲン依存性前立腺癌細胞、去勢抵抗性癌と進むに連れて亢進していた。 （考察） アンドロゲン刺激により活性化される一方、他のアンドロゲン非依存性細胞株においてはアンドロゲン非存在下でも恒常的に活性化されていること、さらにこの経路の遮断によりアンドロゲン依存性・非依存性に関わらず aPKC-S6K 経路の抑制および前立腺癌細胞株の増殖が抑制されることから、Rac1 は aPKC-S6K 経路の上流における重要な制御因子であるとともに、本経路の活性化は去勢抵抗性前立腺癌の発生に密接に関連しているものと考えられた。これらの経路の詳細な分子メカニズムを明らかにすることによって新規の治療標的分子の開発につながるものと期待される。				

（論文審査の結果の要旨） 前立腺癌細胞はアンドロゲン依存性に増殖するが、その詳細な分子機構は未だ不明である。また、内分泌療法後に再燃を来たしてくる去勢抵抗性癌の発生機序も未だ明らかにされていないことから、その治療法は限られており予後はきわめて不良である。 前立腺癌のアンドロゲン依存性増殖機構および去勢抵抗性獲得機序を明らかにする目的でこれらに関わるシグナル伝達分子に関してヒト前立腺癌細胞株を用いて検討を行った。その結果、LNCaP 細胞においてアンドロゲン依存性に活性化されると報告されている cSrc および低分子量 G タンパク Rac1 からなる経路はアンドロゲン依存性増殖に必須であることが示された。また、恒常的活性型の Rac1（Rac1V12）を導入によって LNCaP 細胞はアンドロゲン非依存性増殖能を獲得した。Rac1 の活性はアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 PC3・DU145 などでは恒常的に亢進しており、Rac1 の阻害によって LNCaP・PC3・DU145 などにおいて増殖抑制がみられた。ヒト前立腺癌組織を用いた免疫組織学的検討では cSrc-Rac1 経路の活性は良性前立腺上皮細胞、アンドロゲン依存性前立腺癌細胞、去勢抵抗性癌と進むに連れて亢進していた。 これらの結果から、Rac1 は前立腺癌増殖シグナルにおける重要な制御因子であるとともに、本経路の活性化は去勢抵抗性前立腺癌の発生に密接に関連しているものと考えられた。 以上の研究は前立腺癌去勢抵抗性獲得の分子機構の解明に貢献し前立腺癌新規治療法の開発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22年3月15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。
--