

氏 名	伊 藤 哲 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2283 号
学位授与の日付	平 成 12 年 11 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学位論文題目	Concomitant Presence of p16/Cyclin-dependent Kinase 4 and Cyclin D/Cyclin-dependent Kinase 4 Complexes in LNCaP Prostatic Cancer Cell Line. (前立腺腫瘍株 LNCaP における p16/CDK4 と Cyclin D/CDK4 複合体の共存) (主 査)
論文調査委員	教 授 今 村 正 之 教 授 伊 藤 嘉 明 教 授 小 川 修

論 文 内 容 の 要 旨

癌化した細胞には G1-S check point を調節していると考えられている cyclin D/cyclin dependent kinase (CDK) /CDK inhibitory proteins/retinoblastoma protein (pRb) pathway の異常がしばしば認められる。泌尿器系腫瘍である腎癌、前立腺癌、膀胱癌においても CDK inhibitory proteins のひとつである p16 遺伝子の欠損、変異、不活化等が報告されているが、逆に p16 蛋白の overexpression が癌の再発に相関していたという報告もある。そこで泌尿器系腫瘍株においてこの pathway について蛋白の発現と、特に CDK4 の調節機構を調べるために CDK4 の結合の状態を調べた。

腎細胞癌 4 株、前立腺癌 3 株、膀胱癌 2 株における、CDK4, CDK2, D-type cyclins, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), pRb, p16 蛋白の発現をウェスタンブロット法にて調べたところ、3 種類の D-type cyclins には原発巣による特定の発現の様式はなかった。前立腺癌細胞株 LNCaP 以外は、pRb の発現がない、あるいは pRb が不活化されている細胞株においてのみ p16 の発現が認められた。

次に、cyclin D, p16 と CDK4 との結合状態について調べるために CDK4 抗体による免疫沈降物をウェスタンブロット法にて解析すると、LNCaP を除く pRb が正常な細胞株においては CDK4 に cyclin D のみが共沈し、pRb の正常な発現のない細胞株では p16 のみが CDK4 に共沈した。ところが LNCaP においては、cyclin D, p16 両方が CDK4 に共沈した。LNCaP において p16 抗体による免疫沈降物は、cyclin D がウェスタンブロットで認識されない事より、cyclin D/CDK4, p16/CDK4 の独立した二つの複合体が同時に形成されていることが考えられた。

一般に腫瘍細胞株においては pRb の発現の失われた細胞株においてのみ p16 の発現が認められ、p16/CDK4 complex が cyclin D/CDK4 complex に替わって形成されと考えられていたが、この二つの複合体が同時に継続的に LNCaP に存在していた。この点で LNCaP はこの pathway を考えるにあたり貴重な実験モデルである。また LNCaP は in vitro で継代が可能な唯一のヒトホルモン感受性前立腺癌細胞株であり、この二つの複合体の共存は前立腺癌のホルモン非依存性癌への移行に何らかの意味がある可能性がある。LNCaP は男性ホルモン刺激により増殖が早くなるため、男性ホルモン刺激による細胞周期制御機構の変化が興味深い。細胞周期抑制蛋白である pRb と p16 の発現が逆の相関関係にあるのは、p16 の発現が pRb によって抑制されているからであるという報告があるので、LNCaP におけるこの二つの複合体の共存は、不完全に減少した pRb の発現に由来している事が示唆される。P16 と pRb がひとつの pathway の上流、下流の関係にあるので、両者の発現の逆相関の生物学的な意義ははっきりしないが、癌組織の免疫組織染色において両者の発現が43%で認められたという報告からも予想されるように、in vivo の細胞周期の制御では、両者の発現が必ずしも逆相関ではなく、p16/CDK4, cyclin D/CDK4 complex の関与した、さらに複雑な機構が働いていることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

癌細胞には細胞周期の G1-S check point を調節している cyclin D/CDK/CDK inhibitory proteins/pRb pathway の異常がしばしば認められる。そこで泌尿器系腫瘍株において、この pathway の蛋白の発現と CDK4 の結合の状態を調べた。

腫瘍細胞 8 株においては正常な pRb の発現の失われた細胞株においてのみ p16 が発現し、p16/CDK4 complex が cyclin D/CDK4 complex に替わって形成され、細胞周期抑制蛋白である pRb と p16 の発現が逆の相関関係にあるとされる他の報告に一致した。しかし LNCaP においてはこの二つの複合体が同時に継続的に存在していた。P16 と pRb がひとつの pathway の上流、下流の関係にあるので、両者の発現の逆相関の生物学的な意義ははっきりしないが、LNCaP で認められたこの二つの複合体の共存は、不完全に減少した pRb の発現に由来していると考えられ、これは、癌組織の免疫組織染色において両者の共発現が43%で認められたという他の報告にも一致する。In vivo おける細胞周期の制御機構においては両者の発現は必ずしも逆相関ではなく、p16/CDK4, cyclin D/CDK4 complex の関与した、さらに複雑な機構が働いていることが示唆された。

以上の研究は泌尿器系腫瘍の細胞周期制御機構の解明に貢献し、泌尿器系腫瘍の診断治療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12年9月20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。