

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 武田 啓介
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 705 号
学位授与の日付 平成 28 年 9 月 20 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 Corepressive function of nuclear receptor coactivator 2 in androgen receptor of prostate cancer cells treated with antiandrogen
(前立腺癌細胞アンドロゲン受容体に対する抗アンドロゲン剤使用時の NCOA2 の抑制共役因子作用)

論文審査委員 主査 教授 近藤 英作
副査 教授 味岡 洋一
副査 教授 富田 善彦

博士論文の要旨

背景と目的 : アンドロゲン受容体は核内受容体スーパーファミリーの一員であるステロイドホルモン受容体であり, リガンド依存性に標的遺伝子の転写制御を行なっている. アンドロゲン受容体が前立腺の増殖に発達, 良性疾患, 悪性疾患ともに関与していることは明白であり, 治療標的とされてきた.

アンドロゲン除去療法は転移性・高リスク非前立腺癌の主たる治療法である. アンドロゲン除去療法を受けている症例はしばしば治療抵抗性を示し去勢抵抗性前立腺癌となるが, 最後までアンドロゲン受容体を介した反応, またその下流因子である PSA (Prostate Specific Antigen) の産生も保たれている. これは去勢抵抗性化のメカニズムとして従来より指摘されてきたアンドロゲン受容体の点変異や増幅のみでは説明がつかず, 近年では転写共役因子の関与が示唆されている. 転写共役因子はそれら同士で複合体を形成しており, 標的遺伝子プロモーターにおいて転写活性化領域に結合し, ステロイドホルモン受容体を介して転写を制御している.

アンドロゲン除去療法とアンドロゲン受容体アンタゴニストである抗アンドロゲン剤内服の併用療法は一部の高リスク前立腺癌症例で良好な成績が示されてきた. しかし興味深いことに抗アンドロゲン剤が投与中に一転してアゴニスト作用を示すことがしばしばあり, その投与を中止すると PSA 値が減少する, いわゆる antiandrogen-withdrawal syndrome と呼ばれる現象が観察されてきた. このような症例は予後良好である可能性も示唆されている. このアンタゴニストのアゴニスト化現象中はアンドロゲン受容体の発現が亢進されているとの報告もあるがそれのみでアゴニスト化の機序が解明されておらず, 関与する転写制御因子の変化が示唆されている.

このように, 前立腺癌におけるアンドロゲン受容体に対する転写共役因子の機能はまだ十分には解析がなされていない. 今回, 申請者らはアンドロゲン受容体に関与する転写共役因子である NCOA 群, NCOR 群の発現・変化とその作用を, 抗アンドロゲン剤を用いて様々なホルモン環境を設定し検討することとした.

方法 : 前立腺癌細胞株 LNCaP, VCaP を用いて, アンドロゲンとしてジヒドロテストステロン (DHT;

dihydrotestosterone) を、抗アンドロゲン剤としてビカルタミド (BC; bicalutamide) またはフルタミド (HF; hydroxyflutamide) を加えた、他にステロイド性物質を含まない RPMI1640 培地で 3 日間培養した。DHT 濃度はアンドロゲン除去療法施行中の患者平均血液濃度の 10⁻⁹M とした。mRNA 発現レベルは RT-PCR 法を用い delta-delta Ct 法にて相対的定量で解析した。特異な亢進があった転写共役因子に対してはウェスタンブロット法にて蛋白レベルでも確認した。また遺伝子ノックダウン方法として siRNA を electroporation にて行い、MTT 試験と上清 PSA 測定にて増殖アッセイとした。

結果：LNCaP では DHT + BC 環境で DHT のみの環境に比し NCOA2 の mRNA は 4.01 倍高値であった。VCaP では同環境で NCOA2, NCOA7 が軽度上昇（それぞれ 1.96 倍, 2.42 倍）であった。NCOA2 はウェスタンブロット法で蛋白レベルでも LNCaP で DHT + BC 環境は DHT のみに対し発現亢進していることが確認された。NCOA2 をノックダウンすると上清 PSA 値は 101.6 ± 4.2 vs 87.8 ± 1.4 (NCOA2 ノックダウン対陰性コントロール) であり、NCOA2 をノックダウンした方が PSA 値が上昇する結果となった。MTT 試験でも LNCaP で DHT のみの環境では差は見られなかったが、LNCaP で DHT + BC 環境では NCOA2 をノックダウンすると増殖が促進されていた。

考察と結論：NCOA2 の転写制御能は一般に活性化因子として知られているが、今回の結果からは LNCaP + DHT + BC 環境では抑制因子として働いていると考えられた。前立腺の癌化による転写活性化領域の変化、共役因子の相互作用などが考えられた。

審査結果の要旨

前立腺がん患者では、抗アンドロゲン剤が投与中に一転してアゴニスト作用を示すことがしばしばあり、その投与を中止すると PSA 値が減少する、いわゆる antiandrogen-withdrawal syndrome と呼ばれる現象が観察されることに注目し、前立腺癌細胞株 LNCaP, VCaP を用いて、アンドロゲンとしてジヒドロテストステロン (DHT; dihydrotestosterone) を抗アンドロゲン剤投与処理で起こる分子学的変化について、特に前立腺がん進展のキー分子として認識されている NCoA 群の発現変動と出力としての増殖能および PSA 産生に注目して解析した。結果、NCOA2 をノックダウンした細胞群で PSA 値が上昇し、また MTT 試験でも LNCaP では DHT + BC 環境では NCOA2 をノックダウンすると増殖が促進されていた。以上より、NCOA2 の転写制御能は一般に活性化因子として知られているが、今回の結果からは LNCaP + DHT + BC 環境では抑制因子として働いていると結論された。

学術的に、従来がん促進に働くとされている NCoA2 が、逆転的な機能を発揮する bimodal な分子機能を発揮するという前立腺がんにおける新規機能の発見につながった点で価値ある基礎研究であると評価できる。今後、その詳細な機序についての解析と臨床学的な応用への展開が期待される。

以上より、学位論文の価値を認める。