

論文内容の要旨

論文提出者氏名 上田 崇

論文題目

Hyper-expression of PAX2 in human metastatic prostate tumors and its role as a cancer promoter in an in vitro invasion model

論文内容の要旨

転移を有する前立腺癌の治療はアンドロゲン遮断療法が行われる。転移性前立腺癌は治療初期には良好な反応を示すが、やがて去勢抵抗性前立腺癌と呼ばれる状態となり治療抵抗性となる。前立腺癌の転移メカニズムの解明は臨床上重要であると考えられる。がんの転移は、原発巣からの遊離と浸潤、脈管への侵入、脈管内の移動、標的組織への接着、定着と増殖といった段階を経て成立することが知られている。その中で癌の浸潤は **Matrigel assay** で評価可能である。器官形成を制御する因子の機能破綻が転移に関与する事が知られており、著者らは前立腺の器官形成に重要な転写因子として知られるPAX2(Paired box 2)の機能を**Matrigel assay**を用いて解明することを本研究の目的とした。

ヒト前立腺癌モデルとしてヒト由来前立腺癌細胞株LNCaP、DU145、PC3、22Rv1、ヒト正常前立腺モデルとしてヒト由来正常前立腺上皮細胞株RrECを用いた。まずそれぞれの細胞株のPAX2の発現をリアルタイムRT-PCR、Western blottingで検討した。その結果、正常前立腺細胞と比較して前立腺癌細胞においてPAX2が高発現していることが判明した。

次に用いた細胞株の中でPAX2が高発現しておりホルモン非依存性増殖を示す細胞株である22Rv1、DU145においてPAX2のノックダウンを行い、その増殖速度を検討した。その結果PAX2過剰発現が前立腺癌細胞の増殖を促していることが示唆された。さらに前立腺癌細胞におけるPAX2の標的遺伝子を解析する目的でマイク

ロアレイ解析を行った。マイクロアレイチップはAgilent社のものを用い、解析ソフトとしてGeneSpringGXを用いた。Gene Set Enrichment Analysis (GSEA)によりPAX2ノックダウンにより癌関連遺伝子が変動している事が判明した。

PAX2の高発現が癌の増悪に関与していることが示唆されたため、ヒト前立腺癌患者検体を用いて免疫染色、リアルタイムRT-PCRによりPAX2の発現を検討した。検体は前立腺癌正常部位、癌部位、転移部位に分けて観察した。その結果前立腺癌転移部位においてPAX2が高発現している事が判明した。

以上の結果からPAX2高発現が前立腺癌の転移促進に働く可能性が示唆された。PAX2は腎の上皮間葉転換(EMT)に関与する事が報告されており、転移の初段階である癌細胞の浸潤を促進すると考えられたため **Matrigel assay**を用いてPAX2の機能を解析した。22Rv1、DU145においてPAX2をノックダウンする事により癌細胞の浸潤能は低下した。すなわちPAX2は前立腺癌細胞において浸潤を促進する因子であることが判明した。

さらにPAX2が癌細胞の浸潤を促進するメカニズムを解明する目的で先述のマイクロアレイのデータを用いて Gene Ontology解析を行った。PAX2の標的遺伝子の大多数が細胞組成蛋白に関連づけられ、さらに膜蛋白に分類される事が判明した。著者らは膜蛋白の中で癌細胞の浸潤と関連することが報告されているカドヘリンに注目し、PAX2との関係を調べた。その結果、リアルタイムRT-PCRとウェスタンブロットティングの結果NカドヘリンがPAX2により制御されることが判明した。すなわち、PAX2がNカドヘリンの発現誘導を介して前立腺癌細胞の浸潤を促進している可能性が考えられた。

以上より PAX2 は転移の際に変動することが報告されている N カドヘリンを初めとした膜蛋白の発現誘導を介して前立腺癌細胞の浸潤を促進し、前立腺癌の転移を促進する因子であることが示唆された。PAX2 は転移性前立腺癌の新規治療標的となりうると考えられた。