

## 学 位 論 文 要 旨

博士課程 ①・乙	第 号	氏 名	上別府 豊治
<p>[論文題名]</p> <p>Caveolin-1 and -2 regulate cell motility in castration-resistant prostate cancer          去勢抵抗性前立腺癌細胞における Caveolin-1, -2 の機能に関する研究          Research and Reports in Urology, 10, 135-144, 2018, DOI:10.2147/RRU.S173377</p> <p>[要 旨]</p> <p><b>背景</b></p> <p>Caveolin-1(以下 CAV1)および Caveolin-2(以下 CAV2)は、それぞれ分子量約 20KD の蛋白で、生体内に ubiquitous に存在し、エンドサイトーシスやコレステロール輸送などに関与するカベオラと呼ばれる細胞膜陥没構造の骨格を形成する主要蛋白である。近年、Caveolin が内部にリン酸化部位を持ち、近接する EGFR 等の受容体や、Src や H-Ras 等の膜蛋白にシグナルを伝達することが報告されている。癌に関しては、CAV1 の高発現が肺癌や腎細胞癌において、CAV2 の高発現が頭頸部癌や膝癌において、それぞれ予後不良因子であると報告されている。一方で、それらの各癌細胞における機能については解明されていない。また、前立腺癌に関しては、CAV1・CAV2 の前立腺癌組織における発現は確認されているが、それらのバイオマーカーとしての有用性についてはこれまで評価されていなかった。そこで我々は、前研究において、まず CRPC 患者における CAV1・CAV2 の血中濃度を測定し、その臨床的有用性を検討した。その結果、血漿中の CAV1・CAV2 の蛋白濃度は、去勢抵抗性前立腺癌（以下 Castration-Resistant Prostate Cancer :CRPC）群で有意に高値でありことを確認した (CAV1, p=0.003; CAV2, p&lt;0.001) (参考文献)。</p> <p>進行性前立腺癌は、外科的または内科的去勢によるアンドロゲン除去療法により腫瘍が一旦縮小するが、いずれは抵抗性を獲得し、CRPC へと移行する。近年 CRPC に対する治療薬として、アンドロゲン受容体 (AR) を強力に阻害する薬剤が多数開発され、予後延長効果が示された。一方で、それらの効果は一時的であり、最終的には AR に依存せずに増殖する癌細胞が発生するが、その治療法は確立されていない。</p> <p>今回我々は CRPC 細胞において、CAV1・CAV2 が AR 非依存性の増殖や浸潤に関与しているか、解析を行った。</p> <p><b>研究方法および目的</b></p> <p>1. 前立腺癌細胞株における CAV1・CAV2 の発現解析</p> <p>CRPC 細胞株である PC3、DU145、22Rv1 および去勢感受性細胞株である LNCaP における CAV1・CAV2 の mRNA(real time PCR)と蛋白(Western blotting)の発現を確認する。さらに各細胞における AR の発現を確認し、CAV1・CAV2 の発現との相関を解析する。</p>			

## 2. CAV1・CAV2 ノックダウンによる機能解析

CAV1・CAV2 の発現が高い PC3 に対して、特異的 siRNA を用いて、CAV1・CAV2 のノックダウンを行い、コントロール細胞株との間で、増殖能 (MTT アッセイ)、遊走能 (創傷治癒アッセイ)、浸潤能 (マトリゲル浸潤アッセイ) を比較する。また、PCR アレイを用いて、CAV1・CAV2 発現低下により変動する分子を探索する。

### 結果

1. PC3 (AR 陰性)、DU145 (AR 陰性)、22Rv1 (AR 陽性)、LNCaP (AR 強陽性) それぞれの細胞から抽出した mRNA と蛋白において、CAV1・CAV2・AR の発現を評価したところ、去勢感受性株である LNCaP と比較し、CRPC 株である PC3 と DU145 において、有意に CAV1・CAV2 の発現が高かった。また、AR の発現と CAV1・CAV2 の発現との間には逆相関がみられた。
2. CAV1・CAV2 のノックダウンにより、増殖能と浸潤能には有意差を認めなかったが、遊走能はコントロール細胞株と比較して有意に低下していた。CAV1・CAV2 により制御され、PC3 細胞において遊走能に影響を与えている分子を同定するために、CAV1・CAV2 ノックダウンの前後での上皮間葉移行に関連する分子の発現を比較した結果、CAV1 のノックダウンにより、ビメンチンと N-カドヘリンの発現が低下していた。さらに、CAV1・CAV2 ノックダウン前後での PCR アレイによる癌の浸潤に関わる分子の差を確認したところ、CAV1 のノックダウンにより、MGAT5、MMP13、MYCL 等の発現が有意に低下しており、CAV2 のノックダウンにより、ETV4、FGFR4、SRC 等の発現が有意に低下していた。

### 結論

CAV1・CAV2 は、特に AR 陰性 CRPC 細胞株で発現が高く、上皮間葉移行関連分子の発現を制御し、細胞の遊走能と関与する可能性が示された。以上より、AR 陰性 CRPC に対する治療標的となる可能性が示唆された。また、前研究の結果を踏まえると、CAV1・CAV2 は、CRPC 患者の進行を予測するバイオマーカーとしての有用性も期待された。

### (参考文献)

Significant Association of Caveolin-1 and Caveolin-2 with Prostate Cancer Progression  
前立腺癌進展における Caveolin-1, -2 の意義 (血中濃度と臨床病理学的因子との相関解析)  
に関する研究

Cancer Genomics and Proteomics, 12, 391-396, 2015

備考 論文要旨は、和文にあつては 2,000 字程度、英文にあつては 1,200 語程度