

論 文 内 容 要 旨

Transcribed ultraconserved region Uc.63+ promotes resistance to docetaxel through regulation of androgen receptor signaling in prostate cancer

(前立腺癌において転写超保存領域 Uc. 63+はアンドロゲン受容体シグナルを介してドセタキセル抵抗性を促進させる)

Oncotarget, 8(55):94259-94270, 2017.

主指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：松原 昭郎教授

(医歯薬保健学研究科 腎泌尿器科学)

副指導教員：大上 直秀准教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

関野 陽平

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

前立腺癌は、罹患率、死亡率、共に高い癌であり、進行癌でのアンドロゲン除去療法は一定の効果を認めるが、殆どは去勢抵抗性前立腺癌（castration-resistant prostate cancer: CRPC）となる。CRPC に対してドセタキセル（DTX）が使用されているが、DTX 抵抗性を獲得し、死に繋がる。DTX 抵抗性については、アンドロゲン受容体（AR）の変異等による AR シグナルの活性化が関与するという報告を認めるが、その詳細なメカニズムは不明である。

転写超保存領域（Transcribed Ultra-Conserved Region; T-UCR）は、蛋白質をコードしない non-coding RNA のうち、種を超えて脊椎動物に保存されているものである。当研究室では前立腺癌において、ある種の T-UCR が DNA メチル化により発現が抑制されていることを報告しているが、生物学的意義については解析されていない。本研究では、前立腺癌で高発現をしている T-UCR について、発現、機能解析を行い、AR および DTX 耐性との関連を解析した。

前立腺癌組織 12 症例、非前立腺癌組織 8 症例を用い、マイクロアレイ解析より前立腺癌での高発現が報告されている 26 領域の T-UCRs の発現を定量的 RT-PCR で解析したところ、Uc.3+、Uc.4+、Uc.63+が前立腺癌組織で非前立腺癌組織に比べ有意に高発現していた。この 3T-UCRs の内、Uc.63+のみが前立腺癌細胞株（LNCaP, DU145, PC3）においても非前立腺癌組織に比べ高発現しており、Uc.63+に着目して解析をすすめた。前立腺癌組織 20 症例で Uc.63+の発現と病理学的因子との関連を解析すると、Uc.63+は高グリソンスコア、高 PSA 値と関連を認めた。次に前立腺肥大症 10 症例、限局性前立腺癌 24 症例、転移性前立腺癌 45 症例の血清中の Uc.63+を droplet digital PCR (ddPCR)で解析すると、転移性前立腺癌において、前立腺肥大症、限局性前立腺癌と比べ有意に高いレベルであった。In situ hybridization で Uc.63+の局在を調べたところ、Uc.63+は非前立腺癌組織に比べ前立腺癌組織で高発現し、核に局在を認めた。LNCaP で Uc.63+を強制発現させると、細胞増殖、遊走能が有意に亢進し、逆に PC3 で Uc.63+に特異的な siRNA を用いてノックダウンさせると、細胞増殖、遊走能が有意に抑制された。T-UCR と microRNA に関するデータベース解析から、Uc.63+と相補的な配列を有する miR-130b を同定した。miR-130b の発現は Uc.63+を強制発現させると抑制され、逆にノックダウンさせると亢

進した。前立腺癌組織で miR-130b の発現を定量的 RT-PCR で解析すると Uc.63+ の発現と逆相関関係であった。さらに miR-130b が MMP2 の発現制御に関与するとの報告があることから、MMP2 と Uc.63+ の関連について検討した。Uc.63+ を強制発現させると MMP2 の発現が亢進し、Uc.63+ のノックダウンにより MMP2 の発現が抑制された。これらの結果より Uc.63+ は miR-130b を介して MMP2 の発現を制御していることが示唆された。AR が前立腺癌の進行に中心的な役割を果たしていることより、Uc.63+ と AR との関連を調べた。前立腺癌組織で AR の発現を定量的 RT-PCR で解析すると Uc.63+ の発現と相関関係であった。さらに AR 陽性の LNCaP で Uc.63+ を強制発現させると AR の発現が亢進し、AR の下流シグナルである PSA の発現も亢進した。次に、Uc.63+ と AR および DTX 感受性との関連を検討した。AR 陽性の LNCaP で Uc.63+ を強制発現させると DTX 抵抗性が亢進したが、AR 陰性の DU145 では Uc.63+ の影響は認められなかった。これらの結果より Uc.63+ は AR を介して DTX 耐性に関与していることが示唆された。DTX 治療を受けた CRPC27 症例において血清中の Uc.63+ レベルを ddPCR で解析すると Uc.63+ は DTX 効果不良群で有意に高く、さらに Kaplan-Meier 法で予後を解析すると Uc.63+ 高値群は有意に予後不良であった。

以上の結果より、Uc.63+ は前立腺癌において高発現しており、miR-130b を介して MMP2 を制御し、AR を介して DTX 耐性に関与していた。Uc.63+ は CRPC 患者において DTX 治療抵抗群で高発現し、Uc.63+ の高発現は予後不良因子であった。Uc.63+ は新規診断マーカーおよび治療標的として有用であると考えられた。 1961/2000 文字