

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	内藤 美季
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 Par14 interacts with the androgen receptor, augmenting both its transcriptional activity and prostate cancer proliferation (Par14 はアンドロゲン受容体の転写活性を増強することで前立腺癌の生存に寄与する)			
論文審査担当者			
主査	教授 日向 信之	印	
審査委員	准教授 藤本 成明		
審査委員	教授 武島 幸男		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【背景】日本において、前立腺がんの罹患率は上昇傾向が続いており、男性では最も発症頻度が高いがんとなっている。それに伴い、前立腺がんによる死亡も増加しているが、その要因として食事の変化や寿命の延長などが考えられているものの、その詳細な原因は明らかになっていない。前立腺癌はアンドロゲン依存性に増殖するため、アンドロゲン受容体の転写活性を抑えるアンドロゲン除去療法が有効な治療となっているが、アンドロゲン受容体の制御に関しては明らかになっていない部分が多く残されている。</p> <p>peptidyl prolyl cis/trans isomerase NIMA-interacting 1 (Pin1)については、前立腺がん、卵巣がん、膵がんなど様々ながんの悪性度や予後との関連が明らかにされている。一方、Par14はPin1のN末端のWWドメインがBasicドメインに変化した構造を持つ同じパルブリンファミリーの一員であるが、機能などほとんど明らかになっていない。今回、Par14の前立腺癌への関与の可能性を考え、新たな治療戦略を探るべく研究を行った。</p> <p>【方法】前立腺がんにおけるPar14の発現、Par14とOverall Survival (OS)、Progression-Free Survival (PFS)の関係は、public databaseであるTMN plotとGEPIAのdeposited dataを用いて解析した。また、mRNA量は、SYBR Greenを用いたreal time PCRにより、蛋白発現量はウエスタンブロットにより検討した。蛋白相互作用は、免疫沈降法とproximity ligation assayにより確認した。アンドロゲン受容体の転写活性は、PSAのプロモーターを組み込んだベクターを用いてルシフェラーゼアッセイにより測定した。</p> <p>【結果】RNAシーケンスのパブリックデータから、Par14は前立腺がんでは過剰発現していることが分かった。また、Par14の発現が多いとOSとPFSは短くなる傾向があったが、治療法の進歩により予後が延長しているためかOSでは有意差がつかなかった。</p> <p>前立腺がん細胞株LNCap細胞のPar14を、siRNAを用いて発現抑制（ノックダウン）すると、細胞増殖速度は顕著に抑制された。そこで、細胞周期への影響を検討したところ、siRNA処理によるPar14ノックダウンによってLNCap細胞のcell cycle arrestが認められ、この結果と合致するようにCDK inhibitor p21の発現は顕著に増加した。一方、明確なアポトーシスの増加は認められなかった。これらの結果より、Par14はアポトーシスの阻害よりも、細胞周期の促進に関与することが示唆された。p21は、転写因子p53により発現誘導されることが知られているので、Par14がp53の機能に与える影響について検討した。Par14は、p53の発現量やリン酸化には影響を与えなかったが、Par14をノックダウンするとp53の核移行が促進された。</p> <p>次に、Par14とARの関係について検討した。興味深いことにアンドロゲン誘導性遺伝子の発現は、Par14をノックダウンすると転写レベルで抑制された。また、Par14はARのDNA-binding domain (DBD)を介して直接結合しており、ARの発現量や局在性には影響を与えずに、転写活性を促進することが明らかとなった。</p>			

【考察】上記の結果より Par14 は、アンドロゲン応答性前立腺癌細胞 LNCap の増殖に強く寄与していた。その機序として Par14 は p21 の発現抑制と AR の転写活性増大を行うことで、細胞増殖を強力に促進すると考えられた。

AR には NTD ドメイン、DBD ドメイン、LBD ドメインがある。Pin1 が NTD ドメインに結合することは以前に報告されていたが、本研究では DBD ドメインに Par14 が結合することが明らかになった。本来、アンドロゲン除去療法のターゲットとなってきたのは LBD ドメインであったが、DBD ドメインに結合する Par14 を阻害することで、相加的な治療効果が期待される。

以上の結果から、本論文は Par14 が AR シグナルの重要なメディエーターであり、前立腺癌の進展に寄与することを明らかとし、前立腺癌における新たな治療選択肢としての可能性を示したという点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が内藤 美季に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。