

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	機能再建再生科学領域 泌尿器移植再生医学教育研究分野 氏名 佐藤 天童
(論文題目) Core 2 β-1, 6-<i>N</i>-acetylglucosaminyltransferase-1 expression in prostate biopsy specimen is an indicator of prostate cancer aggressiveness (前立腺生検標本における GCNT1 の発現は悪性度の指標になり得る)	
(内容の要旨) 【目的】 前立腺癌は欧米人男性の癌罹患率の 1 位である。日本においてもその数は増加しており、2015 年の推計で癌罹患率の 1 位になったと報告されている。Prostate Specific Antigen (PSA) は前立腺癌のスクリーニング検査として世界的に多用されている検査法である。しかし、その特異度は低く、United States Preventive Services Task Force(USPSTF)は PSA 検診に基づく前立腺針生検の有害性を強調している。また、前立腺癌は臨床的に低悪性度の集団を含むため、癌治療による恩恵よりも治療に伴う尿失禁、性機能障害などの有害事象を指摘する意見も多い。このように、不要な治療に伴う機能障害を未然に防ぐには治療前に癌の悪性度を評価可能なバイオマーカーの開発が必要である。 細胞の悪性化に伴い細胞膜に発現する糖鎖構造が大きく変化し、浸潤、転移の過程においても重要な役割を果たしていることが知られている。私たちの研究グループは分岐型 コア 2 糖鎖構造を形成する糖転移酵素である Core 2 β -1, 6- <i>N</i> -acetylglucosaminyltransferase-1 (GCNT1) の遺伝子クローニングと機能解析を行い、その発現が大腸癌 (Cancer Res, 1997)、肺癌 (Cancer Res, 2001)、前立腺癌 (Glycobiology, 2005) 精巣腫瘍 (Int J Cancer, 2010)、膀胱癌 (EMBO J, 2011) などの悪性度と相関することを報告してきた。 しかし、従前の研究はポリクローナル抗体を使用して実施してきたため、GCNT1 の癌バイオマーカーとしての汎用性には限界があった。そこで本研究では、抗 GCNT1 モノクローナル抗体を作成し、前立腺生検標本における発現と前立腺癌悪性度の関連について検討した。 【対象と方法】 2005 年から 2011 年の期間に、当院で根治的前立腺全摘除術を施行された 687 例のうち、ホルモン治療や放射線治療を受けていない 122 例を対象とした。前立腺生検パラフィン切片に対して抗 GCNT1 モノクローナル抗体を用いた免疫組織染色を行い、GCNT1 の発現と臨床病期、Gleason score、PSA 値、前立腺全摘標本における病理学的進展浸潤度および術後 PSA 再発との関連性に関して検討した。 また前立腺癌の進展過程における GCNT1 の役割を確認するため、アンドロゲン依存性ヒト前立腺癌細胞株 LNCaP およびアンドロゲン非依存性ヒト前立腺癌細胞株 DU145 および PC-3 から GCNT1 発現強度の異なる GCNT1 低発現前立腺癌細胞株 (LNCaP-Mock, DU145-Mock, PC3-GCNT1KD) および GCNT1 高発現前立腺癌細胞株 (LNCaP-GCNT1, DU145-GCNT1, PC3NC) を作成し、以下の実験を行った。1) ノードマウス前立腺への DU145、PC3 正所性移植による腫瘍形成試験、2) LNCaP-GCNT1 と前立腺間質細胞の供培養による細胞増殖因子産生の評価、3) ノードマウス前立腺への LNCaP 正所性移植による腫瘍形成試験。 【結果】 前立腺生検パラフィン切片を用いた免疫組織染色では、GCNT1 陽性率は、pT2 53.0%	

に対し pT3 では 86.7%と有意に高率であった ($p<0.05$)。GCNT1 陽性群は陰性群に比べ術後 PSA 再発率が有意に高かった ($p=0.02$)。また、術後 PSA 再発危険因子に関する多変量解析では切除断端陽性、Gleason score 高値、および GCNT1 発現陽性が独立した危険因子であることが明らかになった。

LNCaP-GCNT1 は Mock に比べ前立腺間質細胞との接着能が有意に亢進した ($p=0.0001$)。LNCaP と前立腺間質細胞を共培養すると、LNCaP-GCNT1 において HGF、VEGF、FGF および KGF 発現が有意に増加した ($p<0.05$)。また、LNCaP-GCNT1 は Mock に比してヌードマウス前立腺における腫瘍形成能が有意に高いことが示された ($p<0.05$)。

【結論】

前立腺癌の過剰診療を回避し、治療に伴う機能障害を軽減するには、治療前の患者情報から悪性度を評価する必要がある。本研究では、新たに作成した抗 GCNT1 モノクローナル抗体を使用して前立腺生検標本における GCNT1 発現を評価した結果、前立腺癌の悪性度を鋭敏に反映することが明らかになった。また、引き続いて行った *in vitro* 及び *in vivo* の実験において、GCNT1 発現と悪性度との関連性を裏付ける結果を得た。

本抗体を用いた GCNT1 発現評価は、早期前立腺癌の過剰診療を回避するためのバイオマーカーとして有用であること示唆された。