The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Expression of p27 and Skp2 in prostate cancer treated with or without androgen ablation
Author(s)	志水, 清紀
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45463
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【96】

氏　　名	志水清紀（しみずきよのり）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　１９３２９　号
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学　位　論　文　名	Expression of p27 and Skp2 in prostate cancer treated with or without androgen ablation （前立腺癌におけるアンドロゲン除去の有無による p27 および Skp2 の発現に関する検討）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　奥山　明彦 （副査） 教　授　中村　仁信　　教　授　野口眞三郎

論　文　内　容　の　要　旨

［目的］

前立腺癌は、初期ではアンドロゲン依存性であったものが、やがてはアンドロゲン非依存性、ホルモン療法抵抗性へと進行していくことが知られている。しかしながらそのメカニズムはまだよく解っていない。一方、細胞周期の進行はサイクリンとサイクリン依存性キナーゼ（CDK）のタンパク複合体により成り立っている。p27 は、CDK インヒビターとして細胞周期での G1 期から S 期への進行を負に調節することによって細胞増殖を抑制する因子と報告され、Skp2 は p27 をユビキチン化することによって G1 期から S 期へと導く正の調節因子と報告されている。近年、各種の癌と共に前立腺癌でも腫瘍増殖と p27、Skp2 蛋白との関連が報告されている。しかし、アンドロゲン除去が前立腺癌における p27、Skp2 の発現におよぼす影響については不明であるため、この点について検討した。

［方法ならびに成績］

アンドロゲン依存性前立腺癌細胞株 LNCaP をコントロール、testosterone（10^{-10} M）処理、testosterone（10^{-10} M）＋bicalutamide（10 μg/ml）処理にわけて培養し、Western blot 法にて p27、Skp2 蛋白の発現を検討した。p27 の発現は testosterone 処理により減少し、testosterone に bicalutamide 処理を加えるとコントロールレベルになった。Skp2 は testosterone 処理によって増加し、testosterone に bicalutamide を加えるとコントロールレベルになった。次に、同様に培養をおこなった LNCaP 細胞を用いて蛍光免疫染色を施行した。p27 と Skp2 共に、主として核での発現が見られた。しかし、p27 の発現が高い細胞では、Skp2 の発現は減弱しており、p27 の発現が低い細胞では、Skp2 の発現は亢進していた。そして、testosterone 処理によって Skp2 の発現は増強し p27 の発現は減弱した。これに bicalutamide を加えると Skp2 は減弱し p27 の発現は増強した。このことより、アンドロゲン依存性前立腺癌においてはアンドロゲンによって Skp2 の発現は増強し、p27 の発現は減弱することが示唆された。

次に、ヌードマウスに LNCaP 細胞（5×10^6 個）を皮下移植したのち非去勢（コントロール）群（n＝5）、去勢群（n＝4）に分け、24 週後に得られた移植腫瘍の免疫組織染色を施行した。腫瘍細胞の核における p27 の発現は、コントロール群において低かったが、去勢群では高かった。逆に、Skp2 の核における発現は、去勢群に比べてコン

トロール群において高かった。この結果は、in vivo モデルにおいて、アンドロゲン除去により p27 の発現が増加し、Skp2 の発現が減少することを示している。

さらに、前立腺全摘標本 32 症例（neoadjuvant hormonal therapy（NHT）非施行群 16 症例・NHT 施行群 16 症例）を用いて、免疫組織染色を行い検討した。評価は、正常組織および癌組織の 500 細胞をカウントし、このうちの陽性細胞の割合（%）を算出することにより行った。ただし、p27、Skp2 それぞれ核において強く発現しているものを陽性細胞と判定した。有意差検定は、Mann-Whitney *U* test を用いた。NHT（−）群では、p27 の発現は癌組織に比べ正常組織の方が有意に高かった（$p<0.001$）。逆に Skp2 の発現は、正常組織に比べ癌組織の方が有意に高かった（$p<0.001$）。NHT（＋）群の正常組織は、腺管の萎縮変性のために評価しなかった。次に、癌組織における NHT の影響について検討した。NHT（＋）群は、NHT（−）群に比べ p27 の発現が有意に高く（$p=0.0027$）、Skp2 の発現が有意に低かった（$p=0.019$）。NHT（−）/（＋）群の 2 群に分け、個々の症例における癌組織の p27 と Skp2 の陽性率を比較検討したところ、2 群ともに逆相関が認められた（NHT（−）；$r=-0.612$、$p<0.02$：NHT（＋）；$r=-0.685$、$p<0.01$）。しかしながら、p27 または Skp2 の発現と血清 PSA 値、組織学的分化度、Gleason score との間には有意な相関関係は認められなかった。以上の結果より、ヒト前立腺癌においてアンドロゲン除去療法は p27 蛋白の発現増加に作用し、Skp2 蛋白の発現減少に作用する。そして、アンドロゲン除去療法の有無に関わらず癌組織における p27 と Skp2 の発現は逆相関することが分かった。

［総括］

前立腺癌においてアンドロゲン除去により p27 の発現は増強され、Skp2 の発現は抑制された。この結果は、p27 と Skp2 が前立腺癌におけるアンドロゲン依存性増殖の mediator であり、アンドロゲン感受性に関わる因子であることを示唆するものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、前立腺癌がアンドロゲン依存性からアンドロゲン非依存性、ホルモン療法抵抗性へと進行していくメカニズムを解明するための一端として細胞周期に関わる p27、Skp2 蛋白の発現を検討したものである。この p27 は細胞増殖を抑制する因子であり、Skp2 は p27 を阻害することにより細胞増殖を促す因子とされている。実験では、まず in vitro、in vivo モデルにおいて Western blot 法、蛍光免疫染色、免疫組織化学染色を行うことにより、アンドロゲン除去の条件下で癌細胞での p27 の発現が増加し、Skp2 の発現が減少することを示した。続いて、前立腺全摘標本 32 症例（術前ホルモン療法施行群 16 例、術前ホルモン療法非施行群 16 例）の免疫組織化学染色でも、アンドロゲン除去療法は癌組織での p27 の発現増加に作用し、Skp2 の発現減少に作用することを示した。この結果は、p27 と Skp2 が前立腺癌におけるアンドロゲン依存性増殖の mediator であり、アンドロゲン感受性に関わる因子であることを示唆する。上記の結果は学位論文に値すると考えられる。