

氏名（本籍）	加藤 卓（岐阜県）
学位の種類	博士（医学）
学位授与番号	甲第 906 号
学位授与日付	平成 25 年 3 月 25 日
学位授与要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression
審査委員	(主査) 教授 柴田 敏之 (副査) 教授 清島 真理子 教授 竹内 保

論文内容の要旨

現在去勢抵抗性前立腺癌に対する主たる治療はタキサン系抗癌剤を用いた抗癌化学療法であるが、タキサン抵抗性前立腺癌に対する確立された治療法は無い。新たな治療法開発のために、新規治療標的遺伝子の同定が求められる。ETS1 は転写因子であり、薬剤耐性に関与する MDR1 や癌の浸潤、転移を促進する uPA や MMP1, 3, 9 の転写を促進すると報告されている。本研究はパクリタキセル耐性前立腺癌細胞における ETS1 の役割の解明を目的とした。

【対象と方法】

去勢抵抗性前立腺癌細胞株 PC3 を用い、低濃度のパクリタキセルを添加した。段階的にパクリタキセルの濃度を上げ、20 nM のパクリタキセル耐性 PC3(PC3PR) を作製した。PC3 と PC3PR 間の ETS1, MDR1, uPA, MMP1, 3, 9 の発現を qRT-PCR 法により検討した。更に、PC3PR において small interfering RNA (siRNA) を用いて ETS1 を knockdown し、これらの遺伝子に及ぼす影響を qRT-PCR 法及び Western blot 法により検討した。次に ETS1 の MDR1 の転写活性に対する影響を luciferase reporter assay により評価した。最後に ETS1 の細胞増殖に対する役割を tripin blue exclusion assay を用いて、浸潤能に対する影響を cell invasion assay を用いて評価した。

【結果】

- ① RT-PCR 法により検討した結果、PC3PR では PC3 と比較し ETS1, MDR1, uPA, MMP1, 3, 9 の mRNA は有意に高発現しており、siRNA を用いて ETS1 を knockdown することにより MDR1, MMP9 の mRNA の発現は有意に低下した。uPA, MMP1, 3 の mRNA の発現は ETS1 の knockdown による影響を認めなかった。
- ② Western blot により ETS1, MDR1, MMP9 のタンパクの発現を検討した結果、PC3 と比べ PC3PR においてタンパクの発現量は上昇しており、ETS1 を knockdown することにより MDR1, MMP9 のタンパクの発現量は減少していた。
- ③ MDR1 の promoter を用いた reporter assay の結果では、ETS1 を knockdown することにより、MDR1 の転写活性は有意に低下していた。
- ④ PC3PR と ETS1 を knockdown した PC3PR に 300 nM のパクリタキセルを添加し 48 時間培養した後、

パクリタキセルの殺細胞性を検討した結果では、ETS1 を knockdown した細胞で有意に細胞増殖が抑制されていた。

- ⑤ ETS1 を knockdown して行った cell invasion assay の結果では、control に対して siRNA を導入した群で有意に浸潤能は減弱していた。

【考察】

ETS1 は様々な悪性腫瘍において薬剤耐性や浸潤転移能, 血管新生に関与することが報告されている癌原遺伝子である。

本研究において去勢抵抗性前立腺癌細胞株である PC3 が薬剤耐性を獲得するにともない ETS1 が高発現しており, さらに ETS1 が MDR1 と MMP9 の mRNA の発現を増強させ, 最終的に MDR1 と MMP9 のタンパクを高発現させることにより, 薬剤耐性, 癌の浸潤能を増強させることを解明した。

現在パクリタキセル耐性去勢抵抗性前立腺癌に対する有効な治療法は確立されていない。本研究の結果から ETS1 がパクリタキセル耐性前立腺癌における新規治療標的遺伝子となる可能性が示唆された。

【結論】

ETS1 は MDR1 の発現を転写レベルで促進し, MMP9 をも高発現させることで薬剤耐性, 癌の浸潤能を制御している。

論文審査の結果の要旨

申請者 加藤卓は, パクリタキセル耐性前立腺癌細胞において, 転写因子 ETS1 が MDR1 と MMP9 の発現を上昇させることによりパクリタキセル耐性, 癌の浸潤能を増強することを明らかにした。

本研究の成果は, 前立腺癌の薬剤耐性獲得や浸潤能増強機序に新しい知見を加えるとともに, ETS1 がパクリタキセル耐性前立腺癌の治療標的なることを示唆したものであり, 泌尿器科学および腫瘍学の発展に少なからず寄与するものと認める。

【主論文公表誌】

Taku Kato, Yasunori Fujita, Keita Nakane, Toshio Kojima, Yoshinori Nozawa, Takashi Deguchi, Masafumi Ito : ETS1 promotes chemoresistance and invasion of paclitaxel-resistant, hormone-refractory PC3 prostate cancer cells by up-regulating MDR1 and MMP9 expression
Biochem Biophys Res Commun. 417, 966-971 (2012)