

令和元年6月20日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11016

研究課題名(和文) 高悪性度の前立腺癌に発現するマーカーの研究

研究課題名(英文) Research on markers expressed in high-grade prostate cancer

研究代表者

齋藤 誠一 (Saito, Seiichi)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：80235043

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌の悪性度に関連する分子として、酵素蛋白PCGP-enz、解糖系関連蛋白PCGP-glyco、血圧関連分子PCGP-bp、ストレス応答分子PCGP-stress、ユビキチン関連蛋白PCGP-ub、高悪性度乳がんにも共通発現する蛋白PCGP-br、肺癌にも発現する蛋白PCGP-lc、ER蛋白PCGP-er、等々を同定した。これらの分子のうち、PCGP-lcの高発現群は低発現群に比して、有意にGleason score (GS)が高かった。また、PCGP-erに関しては、高発現群は低発現群に比して有意にGSが高く、T stageも高かった。またSSEA-4が前立腺癌の悪性度に関連していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在早期前立腺癌の発見に貢献している血清PSAは悪性度判定ができないため、悪性度を判定できる新しいマーカーが必要とされている。本研究で悪性度の高い前立腺癌細胞内に現れる分子をいくつか同定した。実際の前立腺摘出術標本を用いて悪性度との関連も確認した。今後、これらの分子の中で前立腺癌患者さんの血清中にも検出されるものがあるか否かを確かめる予定である。高悪性度の前立腺癌が血清でわかるようになれば、積極的な治療が必要になり、命取りにならないようなら経過観察の適応が出て来るため、将来の臨床判断に役立てられるかもしれない。

研究成果の概要(英文)：We identified molecules related to the malignant potential of prostate cancer in prostate cancer cell lines. Those included enzyme protein (prostate cancer glycoprotein-enzyme: PCGP-enz), glycoprotein (GP) related to glycolysis (PCGP-glyco), GP related to blood pressure (PCGP-bp), GP related to stress response (PCGP-stress), GP related to ubiquitin (PCGP-ub), GP commonly expressed in triple negative breast cancer (PCGP-br), GP commonly expressed in lung cancer (PCGP-lc), GP expressed in endoplasmic reticulum (PCGP-er), etc. Among those PCGP-lc and PCGP-er were significantly associated with higher Gleason score and PCGP-er was also significantly related to T stage using radical prostatectomy specimens. We also found stage-specific embryonic antigen-4 (SSEA-4) was significantly associated with the malignant behavior of prostate cancer using clinical samples.

研究分野：Urologic cancer

キーワード：prostate cancer high-grade cancer glycoprotein SSEA-4

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

I. 前立腺癌が進行した病態は去勢抵抗性前立腺癌(CRPC)であり、前立腺癌を克服するためにはCRPCへの進行に関わる機序の解明が重要である。研究開始当時にはmetastatic CRPCにおける大部分(96.4%)の組織型はhigh-grade adenocarcinomaであることが報告された(Cell 2015; 161: 1215)。

II. 幹細胞マーカーとしてのStage-specific embryonic antigen-4 (SSEA-4)がglioblastomaの悪性度と関連すること(Lou YW. Proc Natl Acad Sci USA. 2014; 111, 2482.)、乳がん細胞の抗がん剤耐性と関連し、SSEA-4 合成酵素のST3Gal II (Saito S. J Biol Chem 2003; 278: 26474.)の発現が高い場合には抗がん剤治療後の予後が不良であること(Aloia A. Breast Cancer Res 2015; 17: 146.)が報告され、前立腺癌においてもSSEA-4 陽性のmesenchymal cellsが発現している場合には予後不良との結果が示された(Cheng J. Sci Rep 2016; 6: 16993.)。

2. 研究の目的

重要な治療ターゲットはhigh-grade adenocarcinomaであり、この分子生物学的機序を解明することはCRPCの克服につながると考えられ、研究を開始した。

3. 研究の方法

I. 糖鎖GalNAcDSLc4を認識するモノクローナル抗体(mAb)RM2が前立腺癌の悪性度を反映することを報告した(Saito S, et al. Int J Cancer 2005; 115: 105)。そこで、まず前立腺癌細胞株(PC3, DU145, LNCaP)においてRM2が反応する糖蛋白バンドのうち、不死化正常前立腺上皮細胞株(PrEC)よりも反応レベルが高いバンドに焦点を絞ってLC-MS/MS解析し、得られた200種類以上もの解析蛋白の中から、論文検索により悪性度との関連が示唆される糖蛋白候補を絞り込んだ。

II. SSEA-4と各種がんの悪性度に関する海外からの報告はSSEA-4以外にもGM1bやGD1aにも反応する非特異的なmAb MC813-70を用いていた。一方、我々はSSEA-4に特異的なmAb RM1 (Saito S. J Biol Chem 1994; 269: 5644. & Saito S. J Biol Chem 2003; 278: 26474.)を有しており、前立腺癌細胞株でのSSEA-4発現を確認していた。そこで、共同研究の形で前立腺癌細胞におけるSSEA-4発現の臨床的意義についても研究を行った。

4. 研究成果

I. mAb RM2に関連した研究：前立腺癌の悪性度と関連する糖蛋白として、1)酵素蛋白PCGP-enz、2)解糖系関連蛋白PCGP-glyco、3)血圧関連分子PCGP-bp、4)ストレス応答分子PCGP-stress、5)ユビキチン関連蛋白PCGP-ub、6)高悪性度乳がんにも共通発現する蛋白PCGP-br、7)肺癌にも発現する蛋白PCGP-lc、8)ER蛋白PCGP-er、等々を同定した(論文未発表のため糖蛋白の名前は別称にした)(図1 Gleason score [GS])。

図1a PCGP-enz: High GSで高発現

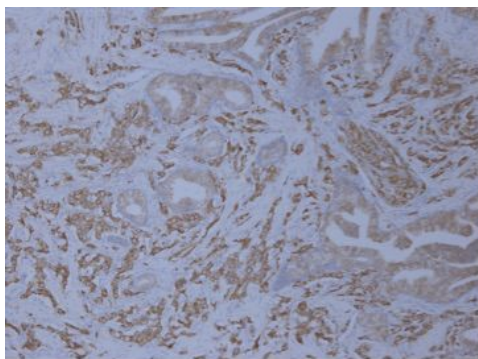


図1b PCGP-bp: High GSで高発現

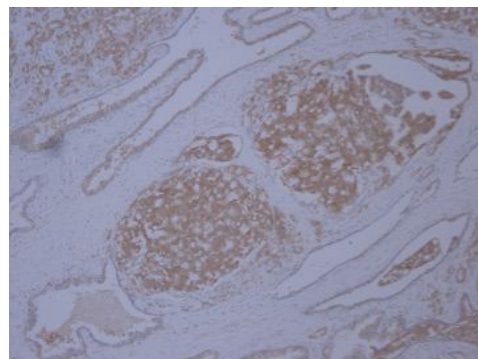


図1c PCGP-glyco: High GSで高発現

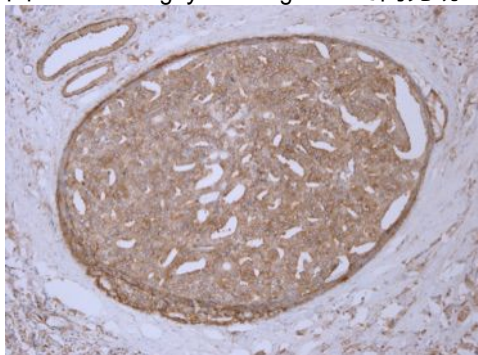


図1d PCGP-er: GP5 (索状配列)で高発現

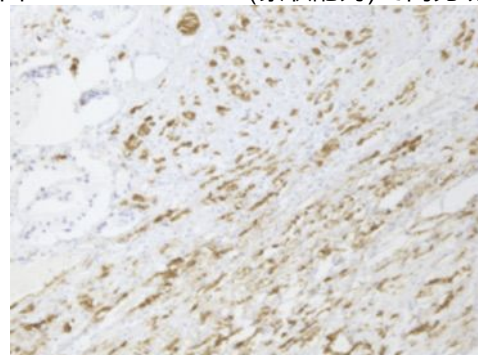


図 1e PCGP-1c: High GS で強く発現

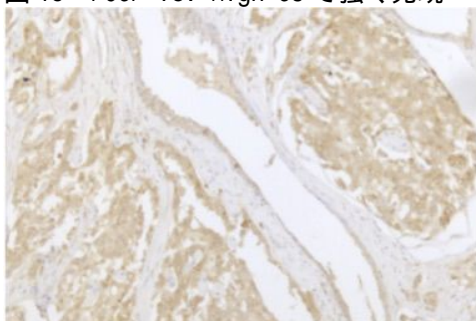


表 1 PCGP-er と臨床病理学的パラメーターとの関連

PCGP-er の発現は High GS や T stage と有意に関連していたが、術前 PSA 値とは関連がみられなかった。

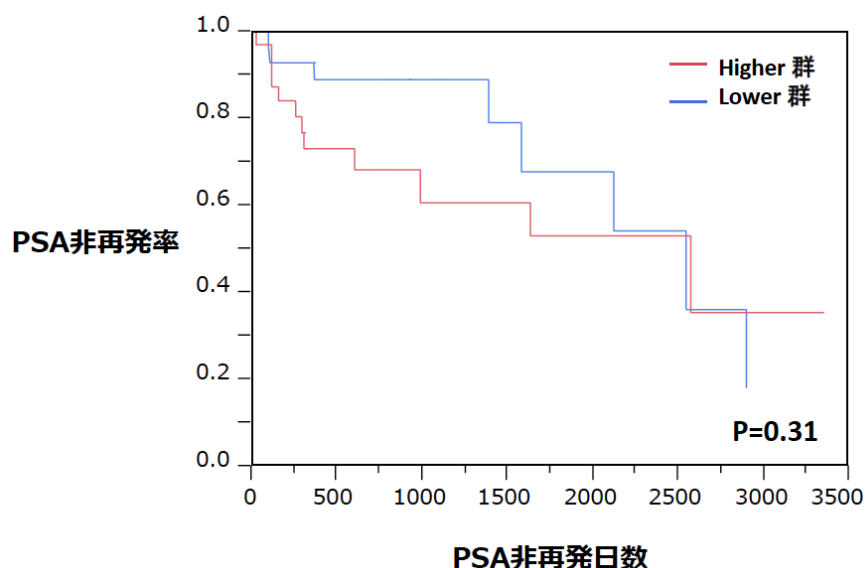
	Lower (n=48)	Higher (n=21)	p value
Age			
≤ 69	25		
≥ 70	23		p=0.0322
Gleason score			
≤ GS 3+4	39	0	
≥ GS 4+3	9	21	p<0.0001
T stage			
≤ pT2	48	4	
≥ pT3	0	17	p<0.0001
preoperative PSA (ng/mL)			
< 10	27	13	
≥ 10	21	8	p=0.7926

表 2 PCGP-1c と臨床病理学的パラメーターとの関連

PCGP-1c は Gleason score と有意に関連していたが、術前 PSA や T stage とは関連がみられなかった。

	Lower (n=48)	Higher (n=21)	p value
Age			
≤ 69	20	23	
≥ 70	15	12	p=0.48
Gleason score			
≤ GS 3+4	23	12	
≥ GS 4+3	12	23	p=0.008
T stage			
≤ pT2	27	23	
≥ pT3	8	12	p=0.29
preoperative PSA (ng/mL)			
< 10	23	17	
≥ 10	12	18	p=0.16

図2 PCGP-Ic 発現と PSA 非再発率との関連
PCGP-Ic 高発現群は前立腺全摘除術後の早期再発に関連しているかもしれない。



11. mAb RM1 (SSEA-4 を特異的に認識する抗体)に関連した研究
SSEA-4 の発現と前立腺癌における臨床病理学的パラメーターについて研究を行った。
長崎大学の宮田康好 准教授との共同研究である。

- 1) 前立腺生検標本を用いた解析では、SSEA-4 発現は Gleason score, local progression (\geq T3), lymph node metastasis and distant metastasis と有意に関連していた。
- 2) 前立腺全摘除術標本を用いた解析では、SSEA-4 発現は Gleason score, local progression (\geq T3), PSA failure-free rate と有意に関連していた。
- 3) 生物学的には、SSEA-4 発現は apoptosis と有意に関連し、増殖能とは関連していなかった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

- 1) Nakamura Y, Miyata Y, Suda T, Saito S, Sakai H, et al. Stage-specific embryonic antigen is a histological marker reflecting the malignant potential of prostate cancer. In submission, 2019 (査読あり)
- 2) Okubo T, Mitsuzuka K, Saito S, Yoichi Arai, et al. Two year bicalutamide monotherapy in patients with biochemical relapse after radical prostatectomy. Jpn J Clin Oncol 48(6): 570-575, 2018. Doi: 10.1093/jjco/hyy060 (査読あり)
- 3) Tsuchida A, Senda M, Ito A, Saito S, Furukawa K, Furukawa K, et al. Roles of GalNAc-disialyl lactotetraosyl antigens in renal cancer cells. Sci Rep 2018; 8(1): 7017. Doi: 10.1038/s41598-018-25521-6. (査読あり)
- 4) Ito J, Ito A, Shimada S, Kawasaki Y, Kakoi N, Satoh M, Saito S, Arai Y, et al. Clinicopathological significance of ganglioside DSGb5 expression in renal cell carcinoma. Glycoconj J 34 (2): 267-273, 2017. Doi: 10.1007/s10719-017-9763-x (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

宮田康好、他：前立腺癌における Stage-specific embryonic antigen-4 の病理学的役割とホルモン療法における変化。第 107 回日本泌尿器科学会総会 名古屋 2019 年 4 月 20 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名： 須田 哲司
ローマ字氏名： Suda Tetsuji
所属研究機関名： 琉球大学
部局名： 大学院医学研究科
職名： 助教
研究者番号（8桁）: 40423347

研究分担者氏名： 仲西 昌太郎
ローマ字氏名： Nakanishi Shotaro
所属研究機関名： 琉球大学
部局名： 医学部附属病院
職名： 助教
研究者番号（8桁）: 40725321

研究分担者氏名： 呉屋 真人
ローマ字氏名： Goya Masato
所属研究機関名： 琉球大学
部局名： 医学部附属病院
職名： 講師
研究者番号（8桁）: 50295317

(2)研究協力者

研究協力者氏名： 宮田 康好
ローマ字氏名： Miyata Yasuyoshi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。