




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第501号	氏名	平井健一
審査委員会委員		主査氏名	白尾 国昭 
		副査氏名	白石 憲男 
		副査氏名	何波 英克 
論文題目 <i>Vav3</i> oncogene enhances the malignant potential of prostate cancer cells under chronic hypoxia (癌遺伝子 <i>Vav3</i> は長期低酸素下において前立腺癌の悪性度を増強する)  論文掲載雑誌名 Urologic Oncology: Seminars and Original Investigation			
論文要旨 【緒言】 癌をとりまく微小環境のひとつである酸素分圧は固形癌の増殖や進展、治療抵抗性に深くかかわっているが、遺伝子発現の制御を含めた低酸素応答の全貌は明らかになっていない。申請者らはこれまでに、長期低酸素環境による前立腺癌細胞株 (LNCaP) の増殖および浸潤、遊走能の亢進ならびにアンドロゲン非依存性の獲得を報告してきており、今回はさらに、それらへの癌遺伝子 <i>Vav3</i> の関連性を検討し論文を発表した。【方法】 申請者らは、LNCaP を正酸素 (LNCaP/N) 及び短期低酸素 (LNCaP/AH, 1%O <sub>2</sub> , 48時間), 長期低酸素 (LNCaP/CH, 1%O <sub>2</sub> , 6ヶ月以上) にて培養し、Agilent社製 Whole Human Genome cDNA microarray (4×44K) を用いて網羅的に遺伝子発現解析を行い、加えて Ingenuity Pathway Analysis (IPA) を用いて pathway 解析を行った。その解析結果、申請者らは、LNCaP/CH において、増殖および浸潤、遊走、アポトーシスとの関連性が認められた <i>Vav3</i> に着目し、遺伝子ノックダウン (siRNA) 下で、LNCaP/CH 細胞の浸潤および遊走能、アポトーシスの解析を行った。また <i>Vav3</i> 安定高発現細胞系を樹立し、in vitro での増殖および遊走、浸潤、細胞周期、発現解析を行った。さらに、 <i>Vav3</i> の下流に存在する Akt についても、Western blot 法を用いて評価を行った。【結果】 cDNA microarray および IPA では、 <i>Vav3</i> は低酸素誘導癌遺伝子であり、増殖や浸潤、遊走能等との関連が高いことを確認した。また、 <i>Vav3</i> は LNCaP/N 細胞および LNCaP/AH に比べ、LNCaP/CH 細胞において、mRNA およびタンパクの発現が亢進していることを明らかにした。また、LNCaP/CH 細胞の増殖能は LNCaP/N に比べて低かったが、LNCaP/AH に比べ高いこと、さらに浸潤能と遊走能に関しては、LNCaP/CH 細胞は LNCaP/N 細胞、LNCaP/AH に比べ明らかに亢進していることを明らかにした。また、siRNA 導入を用いた <i>Vav3</i> ノックダウンにより、増殖、浸潤、遊走能は顕著に抑制され、さらにはカスパーゼカスケード (カスパーゼ-3, cleaved poly (ADP-ribose) polymerase) の活性化が認められ、アポトーシスが誘導されていることを確認した。対照的に、 <i>Vav3</i> 高発現細胞では、増殖、浸潤、遊走能が誘導され、Akt が活性化されていることを認めた。【結語】 申請者らは、長期低酸素環境による癌遺伝子 <i>Vav3</i> の高発現が前立腺癌の増殖および遊走、浸潤に関与しており、前立腺癌治療の新たな標的分子となる可能性を示した。  以上本研究は、前立腺癌の増殖および遊走、浸潤に <i>Vav3</i> が関係していることを初めて示し、今後 <i>Vav3</i> が新たな治療標的となる可能性を示した有意義な研究である。このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 平井 健一

## 論 文 題 目

*Vav3 oncogene enhances the malignant potential of prostate cancer cells under chronic hypoxia* (癌遺伝子 Vav3 は長期低酸素下において前立腺癌の悪性度を増強する)

## 要 旨

【緒言】癌をとりまく微小環境のひとつである酸素分圧は固形癌の増殖や進展、治療抵抗性に深く関わっているが、遺伝子発現の制御を含めた低酸素応答の全貌は明らかになっていない。これまで長期低酸素環境による前立腺癌細胞株 (LNCaP) の増殖および浸潤、遊走能の亢進ならびにアンドロゲン非依存性の獲得を報告してきたが、それらへの癌遺伝子 Vav3 の関連性を検討した。

【方法】 LNCaP を正酸素 (LNCaP/N) 及び短期低酸素 (LNCaP/AH, 1%<sub>2</sub>, 48 時間), 長期低酸素 (LNCaP/CH, 1%<sub>2</sub>, 6 ヶ月以上) にて培養し、Agilent 社製 Whole Human Genome cDNA microarray (4×44K) を用いて網羅的に遺伝子発現解析を行い、加えて Ingenuity Pathway Analysis (IPA) を用いて pathway 解析を行った。その解析結果で LNCaP/CH において、増殖および浸潤、遊走、アポトーシスに関連性の認められた Vav3 に着目した。遺伝子ノックダウン (siRNA) 下で、LNCaP/CH 細胞の浸潤および遊走能、アポトーシスの解析を行った。また Vav3 安定高発現細胞系を樹立し、in vitro での増殖および遊走、浸潤、細胞周期、発現解析を行った。また Vav3 の下流に存在する Akt について Western blot 法により評価を行った。

【結果】 cDNA microarray および IPA では、Vav3 は低酸素誘導癌遺伝子であり、増殖や浸潤、遊



走能等と関連が高かった。また、Vav3はLNCaP/N細胞およびLNCaP/AHに比べ、LNCaP/CH細胞において、mRNAおよびタンパクの発現が亢進していた。LNCaP/CH細胞の増殖能はLNCaP/Nに比べ低かったが、LNCaP/AHに比べ高かった。さらに浸潤能と遊走能に関しては、LNCaP/CH細胞はLNCaP/N細胞、LNCaP/AHに比べ明らかに亢進していた。siRNA導入を用いたVav3ノックダウンにより、増殖、浸潤、遊走能は顕著に抑制されており、さらにはカスパーゼカスケード（カスパーゼ-3、cleaved poly (ADP-ribose) polymerase)の活性化を認め、アポトーシスが誘導された。対照的に、Vav3高発現細胞は、増殖、浸潤、遊走能が誘導され、Aktの活性化を認めた。

#### 【結語】

長期低酸素環境による癌遺伝子 Vav3 の高発現は前立腺癌の増殖および遊走、浸潤に関与しており、前立腺癌治療の新たな標的分子となる可能性が示唆された。