

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	上垣内崇行
論文審査担当者	主査 本田孝行 副査 天野純・菅野祐幸
論文題目 Overexpression of <i>O</i> -GlcNAc by prostate cancer cells is significantly associated with poor prognosis of patients (前立腺癌細胞における <i>O</i> -GlcNAc の過剰発現は前立腺患者の予後不良と密接に関連している)	
(論文の内容の要旨) 〔背景と目的〕この数年、発生、再生、増殖、分化、シグナル伝達などの細胞生物学の現象のみならず、神経筋肉疾患、感染症、生活習慣病などでも、糖鎖が直接または間接的にその発症に関わることが明らかになっており、癌領域においても糖鎖と癌の転移、浸潤、増殖などとの関係が報告されている。 <i>O</i> -結合型 <i>N</i> -アセチルグルコサミン (<i>O</i> -GlcNAc) は転写、翻訳、核輸送、タンパク質の安定性、細胞質間の相互作用などの細胞活動に必須の糖鎖で、核および細胞質内に存在する種々のタンパク質のセリンあるいはスレオニン残基に、 <i>N</i> -アセチルグルコサミン (GlcNAc) が1分子結合した <i>O</i> -GlcNAc 化蛋白質として存在する。 <i>O</i> -GlcNAc 化は翻訳後修飾によるタンパク質の機能制御機構の一つであり、その修飾はリン酸化と同じ部位またはその近傍で相補的または拮抗的に修飾され、酵素である <i>O</i> -GlcNAc 転移酵素 (<i>O</i> -GlcNAc transferase, OGT)、 <i>O</i> -GlcNAc 除去酵素 (<i>O</i> -GlcNAcase, OGA) により触媒される。近年、肺癌、乳癌、大腸癌などにおいて <i>O</i> -GlcNAc は腫瘍の進展に促進的に働くことが報告されているが、 <i>in vitro</i> またはマウスを使用した報告が主であり、臨床的検討の報告は少ない。今回、我々は前立腺癌における <i>O</i> -GlcNAc の発現とその臨床的意義を明らかにするため、前立腺癌生検標本並びに前立腺癌培養細胞株である LNCaP を用いて解析した。 〔方法〕1996年から2002年に長野市市民病院泌尿器科において前立腺針生検により病理学的に前立腺癌と診断され、年齢や病期からホルモン治療を受けた56例の病理標本につき <i>O</i> -GlcNAc の発現を免疫組織化学的に分析し、臨床病理学的パラメータおよび5年生存率との関係を検討した。また、 <i>in vitro</i> の実験として前立腺癌培養細胞株 LNCaP を用いて OGT knockdown LNCaP および control LNCaP を作成し、これら2種類 LNCaP の OGT mRNA の定量、 <i>O</i> -GlcNAc の発現、細胞形態の変化、E-cadherin の発現、増殖能および浸潤能を比較した。 〔結果〕前立腺針生検標本56例すべてにおいて癌細胞は免疫染色にて <i>O</i> -GlcNAc 陽性を示し、同一標本内における正常腺管の染色性と比較して弱く発現するものを弱発現患者群、強く発現するものを強発現患者群と定義したところ、弱発現患者群34例(60.4%)、強発現患者群22例(39.3%)に分けられた。 <i>O</i> -GlcNAc の染色と Gleason score の関係を検討すると強発現患者群のほうが有意に Gleason score が高く高悪性度であった ($P < 0.01$)。また5年生存率を比較したところ強発現患者群が有意に予後不良であった ($P < 0.01$)。コックス比例ハザードモデルを用いた単変量解析では、PSA 値、病期および <i>O</i> -GlcNAc の染色性が有意に予後に影響する因子であった ($P < 0.05$)。さらに、多変量解析では PSA 値、病期、Gleason score、 <i>O</i> -GlcNAc の染色性のなかで唯一 <i>O</i> -GlcNAc の染色性のみが独立した予後予測因子であった ($P = 0.0475$)。 <i>in vitro</i> の実験においては real time RT-PCR による解析で OGT knockdown LNCaP の OGT mRNA は control LNCaP に比較して12%に減少することが確認された。また、Western blot 解析により35および39kDa付近の <i>O</i> -GlcNAc 化蛋白質が OGT knockdown LNCaP で減少することも確認できた。さらに、OGT knockdown LNCaP の細胞形態および E-cadherin の発現は control と比較して変化は認められなかった。MTS assay による増殖能、Invasion assay による浸潤能は OGT knockdown LNCaP で有意に低下した。	

〔結論〕 病理組織学的に *O*-GlcNAc の強発現は統計学的に独立した予後不良因子であった。また *in vitro* の実験においても *O*-GlcNAc は前立腺癌の増殖および浸潤に促進的に働くことが示された。以上より、前立腺癌組織の *O*-GlcNAc 免疫染色は予後予測に有用と考えられた。