

氏名・(本籍)	小泉 淳 (秋田県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 1015 号
学位授与の日付	令和 2 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学系研究科医学専攻
学位論文題名	Increased fatty acyl saturation of phosphatidylinositol phosphates in prostate cancer progression (ホスホイノシタイド(PIPs)における飽和脂肪酸増加と前立腺癌進展の関連検討)
論文審査委員	(主査) 柴田 浩行 教授 (副査) 海老原 敬 教授 後藤 明輝 教授

学位論文内容要旨

Increased fatty acyl saturation of phosphatidylinositol phosphates in prostate cancer progression.

(ホスホイノシタイド(PIPs)における飽和脂肪酸増加と前立腺癌進展の関連検討)

申請者氏名 小泉 淳

研究目的

前立腺癌は世界中で罹患率、死亡数が増加しており、男性において最も重要な癌の1つである。前立腺癌は臨床的、組織学的に不均一性が高く、その発生や進展に関しては未だ不明な点が多い。一般的に前立腺癌増悪の危険因子として脂肪食摂取やそれに伴う肥満があり、前立腺内の脂質代謝亢進の関与も発症増悪機序として考えられている。ホスホイノシタイド(PIPs)は細胞膜を構成する微量リン脂質であり、癌の進展をはじめ幅広い生命現象に関与することが知られている。脂質代謝産物である PIPs は超微量および測定が難しく、リン酸化脂質も含めた測定系を確立している施設は少ない。我々はこれまでにマウスで PIPs 関連酵素である PTEN と INPP4B の両方を欠損させると組織内の PIP₃ が上昇し、甲状腺癌が発症することを報告しているが、前立腺癌における PIPs の発現やその意義は未だ不明である。今回、前立腺細胞株およびヒト前立腺癌患者から得られた臨床検体を用いて PIPs を定量測定し前立腺癌進展との関連を検討した。

研究方法

PIPs は三連四重極質量分析計を用いた選択反応モニタリング法により PIPs のアシル基の種類により分類されるサブタイプとそれらの総量を定量測定した。PTEN 抑制は前立腺癌に重要な遺伝子変化と考えられるため前臨床モデルとして DOX 誘導 PTEN 抑制前立腺細胞株 (PTEN-KD PNT-1B) を用いた。ヒト前立腺組織に関しては、癌組織は秋田大学医学部附属病院で 2015 年から 2017 年に前立腺全摘除術が施行された患者のうち病理学的に前立腺癌と診断された組織を採取し測定に用いた。またコントロールとして良性疾患である前立腺肥大症 (BPH) に対して当院関連施設で前立腺肥大症手術を受けた患者のうち病理学的に悪性所見のなかった組織を測定に用いた。ヒト前立腺癌組織では PIPs プロファイルと臨床因子との関連について統計学的に解析した。研究は当院とその関連施設の倫理委員会の承認を受け、同意取得のもと行った。

研究成績

DOX 誘導 PTEN-KD PNT-1B は、コントロールに比較して PTEN は低発現し、AKT が活性化しており、細胞内での PTEN 抑制が確認できた。また、本細胞は細胞増殖が有意に亢進した。PIP_s プロファイルに関しては、PTEN-KD PNT1B はコントロールに比較して有意に PIP₃ が高値であった (8.14 pmol/1 x 10⁶ cells vs. 3.67 pmol/1 x 10⁶ cells, $p < 0.001$)。一方、PIP₁、PIP₂ は有意に低値であった (各 $p = 0.001$, $p < 0.001$)。以上の結果は、これまで報告されている PTEN の作用から、PTEN 欠損による PIP_s プロファイルの変化と矛盾のない結果であると考えられ、我々の PIP_s 測定系が前立腺細胞においても信頼できる測定系であると判断した。

ヒト前立腺組織において PIP_s の総量は PI、PIP₂、PIP₁、PIP₃ の順に存在量が多く、細胞株における PIP_s 発現プロファイルと類似した。ヒト前立腺癌組織の PI、PIP₁ は BPH 組織に比較して有意に高値であった (PI; 510.4 pmol/mg vs. 213.2 pmol/mg, $p < 0.001$, PIP₁; 6.3 pmol/mg vs. 3.4 pmol/mg, $p = 0.001$)。一方で、ヒト前立腺癌組織の PIP₂、PIP₃ は BPH 組織に比較して有意に低値であった (17.2 pmol/mg vs. 29.2 pmol/mg, $p = 0.038$; 0.07 pmol/mg vs. 1.67 pmol/mg, $p = 0.005$)。ヒト前立腺癌組織におけるアシル基プロファイルは BPH 組織に比較して飽和/単価不飽和脂肪酸 (アシル基の 2 重結合が 0~2 個) を有する PI、PIP₁、PIP₂ の割合が有意に高かった (各 $p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$)。また、前立腺癌組織で臨床背景 (PSA、グリソンスコア、病理病期 pT) に基づいて比較すると、飽和/単価不飽和脂肪酸を有する PI は pT2 群に比較して pT3 群で有意に高値であった ($p = 0.004$)。

結論

本研究は前立腺癌と PIP_s プロファイルの関連を検討した初めての報告である。本研究において、前立腺癌組織 (特に進行前立腺癌) と良性前立腺組織の PIP_s プロファイルの違いを見出すとともに、飽和/単価不飽和脂肪酸を有する PIP_s が増加することがわかった。前立腺癌において PIP_s の脂肪酸飽和度および本経路に関連する脂質代謝関連酵素が癌発症・進展に関与している可能性が示唆された。

学位（博士—甲）論文審査結果の要旨

主 査：柴田 浩行

申請者：小泉 淳

論文題名：Increase fatty acyl saturation of phosphatidylinositol phosphates in prostate cancer

(ホスホイノシタイド (PIPs) における飽和脂肪酸増加と前立腺癌進展の関連検討)

要旨

ホスホイノシタイド (PIPs) は様々な生命現象に関与している。癌化もその一つである。前立腺癌の進展と PIPs 代謝との関連については不明な点が多い。申請者は PTEN を欠損させた前立腺癌の細胞株、前立腺癌及び前立腺肥大患者の臨床サンプルをマスマスペクトロメトリーで解析した。不死化させたヒトの正常な前立腺細胞 PNT1B において PTEN を欠損させるとホスファチジルイノシトール3リン酸 (PIP3) の増加とホスファチジルイノシトール1リン酸 (PIP1) 及びホスファチジルイノシトール2リン酸 (PIP2) の減少を認めた。これは PTEN のホスファチジルイノシトール(3, 4, 5)3リン酸-リン酸化酵素としての機能を示している。前立腺癌ではホスファチジルイノシトールの総量と PIP1 が前立腺肥大に比べて有意に増加していた。一方で、PIP2 と PIP3 は有意に低下していた。前立腺癌ではホスファチジルイノシトール、PIP1、PIP2 のアシル基に(0-2)二重結合を持つものが前立腺肥大に比べて有意に増加していた。前立腺癌の臨床的進行度との関連ではアシル基に(0-2)二重結合を持つホスファチジルイノシトールの量が臨床的病期 T2 よりも T3 で有意に増加していた。このことは PIPs の量的変化やアシル基の飽和度が前立腺癌の進展に関与することを示唆している。

1) 斬新さ

生命現象におけるリン脂質の重要性は古くから様々に指摘されてきた。しかし、核酸や蛋白質といった分子と比較してリン脂質の解析手法は十分には確立されておらず、その生命現象におけるリン脂質の解明は永らく閉ざされていた。申請者らは AKITA method と銘打った新規のマスマスペクトロメトリーを活用し

て前立腺癌の進展状況における PIPs の状態を詳細に解析した。その結果、前立腺の良性病変と悪性病変との間にホスファチジルイノシトールの総量、PIP1、PIP2、PIP3 の間に差異があること、ホスファチジルイノシトールのアシル基の飽和度にも腫瘍サイズによって差異があることを初めて見出した。その生物学的意義は未だ不明であるが、リン脂質のようにセカンドメッセンジャーとして重要な情報伝達物質の病態による違いを見出したことは新たなブレイクスルーにつながる先進性を有していると評価される。

2) 重要性

生命現象を分子レベルで理解することは多くの重要な情報をもたらす。特に悪性腫瘍のような複雑な生命現象の理解には分子診断が強力なツールとなることはこれまでの研究によって示されてきた。しかし、リン脂質は不可侵の領域で、この領域からの情報は著しく欠如していた。申請者らが行った方法はこの領域に切り込むことが可能であることを示した。本研究から、我々は今後、核酸、蛋白質に加えてリン脂質を解析することで、さらなる生命現象に関する分子情報を入手できる可能性が示された点は重要な知見である。

3) 研究方法の正確性

本研究は遺伝子操作した前立腺由来細胞を用いて PTEN のノックダウンによる発癌過程の再現系を作製し、それらのサンプルに対してリン脂質のマスマスペクトロメトリー解析を行い、本法の感度を検定後に臨床サンプルを用いて測定を行っている。このようにステップを踏むことで解析結果が単なる偶然ではなく、特定の生命現象を代表する変化であることを示している。また、得られたデータは適切な統計学的処理がなされ、正確性を期している。

4) 表現の明瞭さ

研究目的、方法、結果、考察について簡潔、明瞭、正確に記載されている。また、研究資金についても記載されており、経済的中立性も担保されている。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判断された。