



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	前立腺がん悪性化に関わるBiglycanの役割に関する研究 [全文の要約]
Author(s)	古御堂, 純
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2714 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14978号
Issue Date	2022-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/86059
Type	doctoral thesis
File Information	FURUMIDO_Jun_summary.pdf



学 位 論 文 (要 約)

前立腺がん悪性化に関わる
Biglycan の役割に関する研究
(Studies on the role of Biglycan
in prostate cancer progression)

2022 年 3 月

北海道大学

古御堂純

学 位 論 文 (要 約)

前立腺がん悪性化に関わる
Biglycan の役割に関する研究
(Studies on the role of Biglycan
in prostate cancer progression)

2022 年 3 月

北海道大学

古御堂純

【緒言】

前立腺がんは、男性において世界で2番目に頻度の高い悪性腫瘍であり、がんによる死亡が6番目に多い悪性腫瘍である。古くから本邦の前立腺がんの罹患率は欧米よりも非常に低いものであったが、近年の食生活の欧米化や社会の高齢化によって、本邦でも前立腺がんは増加している。限局性前立腺がんは前立腺全摘除術もしくは放射線治療で治療される。生化学的再発（BCR）が生じた場合は、アンドロゲン遮断療法（ADT）、いわゆるホルモン療法が行われる。初期の前立腺がんの治療成績は良いが、初期治療であるホルモン療法が効かなくなる（去勢抵抗性前立腺がん：CRPC）と治療成績は悪くなる。また、前立腺がんは骨転移をきたす泌尿器がんの主要ながんの一つである。骨転移は、予後を規定する重要な因子であるだけでなく、疼痛や麻痺をきたし、患者の Performance Status や ADL（Activities of Daily Living）の低下から、原発巣に対する治療継続にも大きく影響し、患者の QOL（Quality of Life）を著しく低下させる。前立腺がん骨転移に対する治療は、全身治療である ADT に加えて、放射線治療や抗 RANKL（Receptor activator of NF- κ B ligand）製剤であるデノスマブやビスホスホネート製剤であるゾレドロン酸などが使用されているが、その臨床的効果は十分ではない。一方、がん細胞の増殖・浸潤・転移などはがん細胞の性質だけに規定されるのではなく、がん細胞が周囲組織細胞との相互作用により形成される腫瘍微小環境が深く関わっていることが近年明らかになってきた。がんの間質の中でも、特に血管新生はがんの進展に深く関わっている。我々は腫瘍血管内皮細胞の性質も正常血管内皮細胞とは異なり、増殖能や遊走能が高く、幹細胞用の性質を示すことを報告している。我々はがんの悪性度によって腫瘍血管内皮細胞は多様な性質を獲得しうることを報告した。そこで、腫瘍血管内皮細胞において発現が亢進している分子、腫瘍血管内皮マーカーである Biglycan（BGN）に着目し、前立腺がん間質における BGN について解析を行なった。

【方法】

研究①：マウスの前立腺がん細胞株 TRAMP-C2 と BGN KO マウスを用いて、皮下移植モデル、骨内投与モデル、心腔内投与モデルでの前立腺がんの骨転移モデルの作成を目指した。

研究②：悪性度の異なる2つの前立腺がん細胞株（LNCaP、C4-2）を用いて、悪性度の異なる前立腺がんの腫瘍微小環境、とくに BGN との関連について解析した。高転移性前立腺がん C4-2 細胞と低転移性前立腺がん LNCaP 細胞を用いて皮下腫瘍を作成し組織学的解析を行なった。がん細胞由来液性因子による血管内皮細胞の遺伝子変化を qRT-PCR 法（quantitative real-time polymerase chain reaction 法）を用いて解析した。前立腺がんの腫瘍血管内皮細胞を分離し BGN の mRNA 発現を qRT-PCR 法を用いて解析した。がん培養上清を加えた RAW264.7 細胞に RANKL を加えて破骨細胞への分化について検討した。

研究③：当院で 2014 年 1 月から 2015 年 7 月に施行されたロボット支援腹腔鏡下前立腺摘除術（RARP）60 例に対して、前立腺がんの間質の BGN と臨床病理学的パラメータとの関連を解析した。

【結果】

研究①：さまざまな方法で前立腺がん骨転移モデルの作成を試みたが、骨転移は形成されなかった。

研究②：高転移性前立腺がん C4-2 の血管密度は、低転移性前立腺がん LNCaP の血管密度に比べ有意に高く、C4-2 腫瘍では腫瘍血管周囲の α SMA 陽性領域（血管周皮細胞）が少なく未熟な血管が多かった。腫瘍全体の BGN は LNCaP 腫瘍で C4-2 腫瘍に比べ高く、腫瘍血管周囲の BGN については C4-2 腫瘍の方が高かったが、統計学的な有意差は認めなかった。がん細胞由来液性因子を含むがん培養上清による血管内皮細胞における血管新生因子の mRNA 発現変化を qRT-PCR を用いて検討したところ、LNCaP 上清に比べて、C4-2 の上清は血管内皮細胞における BGN の mRNA 発現をより大きく上昇させた。高転移性前立腺がんの腫瘍血管内皮細胞は正常血管内皮細胞である MS1 に比べて BGN の mRNA 発現レベルが高かった。RANKL 処理した破骨細胞前駆細胞に高転移性がん細胞培養上清を添加する

と、低転移性がん細胞培養上清の場合に比べて有意に破骨細胞の数が多く認められた。LNCaP 担がんマウスよりも C4-2 担がんマウスの大腿骨骨端線周囲において、TRAP 陽性の活性化破骨細胞が有意に多く認められた。

研究③：当院で施行された RARP 60 例を後方視的に検討した。年齢の中央値は 67 歳、PSA の中央値は 8.347ng/mL だった。T2 以下が 35 例 (58%)、T3 以上が 25 例 (42%) だった。N+症例は 4 例 (7%)、M1 症例は認めなかった。Gleason group は 4 以上が 21 例 (35%) であった。RARP 導入初期の症例であり手術断端陽性が 21 例 (35%) であった。観察期間の平均値は 54 ヶ月で PSA 再発が 17 例、CRPC に至った例が 5 例認められたが、がん死亡、全死亡は認めなかった。前立腺がん臨床検体における BGN 発現は、年齢と、T 因子とリンパ管浸潤に正の相関を示した ($p=0.0040$ 、 $p=0.0184$ 、 $p=0.0430$)。PSA 再発を認めた群では BGN の発現に有意差を認めず(再発なし群 24.5%、再発あり群 26.5%、 $p=0.5237$)、PSA 無再発生存率は Kaplan-Meier 生存曲線でも明らかな有意差を認めなかった($p=0.7066$)。CRPC への進展を認めた群では BGN の発現が 36.1%と CRPC にならなかった群に比べて有意に高く ($p=0.0182$)、CRPC 無進展生存率は Kaplan-Meier 生存曲線において有意に関連があった。($p=0.0179$)。BGN 陽性血管発現率は、T 因子と正の相関を示した ($p=0.0039$)。BGN 陽性血管率は PSA 再発を認めた群では 15.9%、認めなかった群で 8.5%と有意に高かった ($p=0.0169$)。PSA 無再発生存率は Kaplan-Meier 生存曲線において有意差を認めた ($p=0.0239$)。さらに、CRPC への進展を認めた群では BGN 陽性血管率は 28.6%と、CRPC にならなかった群に比べて有意に高かった ($p<0.0001$)。CRPC 無進展生存率は Kaplan-Meier 生存曲線において BGN 陽性血管率が高い群で有意に低かった ($p=0.0474$)。

【考察】

研究①において、骨転移モデルの作成ができなかった。原因としては、手技が未熟であった点が考えられるが、TRAMP 細胞は骨髄血管内皮細胞と接着に必要な E-selectin ligands の発現が低いことも原因の一つと考えられた。

研究②において、前立腺がん原発巣において腫瘍由来因子の影響をうけた血管内皮細胞の血管新生能が亢進していることが示唆された。また、前立腺がん血管内皮細胞から分泌された BGN が腫瘍血管の増生に関わっている可能性が示唆された。また、高転移性がん原発巣からの何らかの液性因子が遠隔の骨組織に影響し破骨細胞を増加させ、骨微小環境の変化を起こしていると考えられた。しかしこの破骨細胞や骨の変化が BGN によって引き起こされているかどうかは検討できなかった。

研究③において、がん間質における BGN が CRPC 進展への因子となっている可能性が示唆され、がん間質に存在する BGN が予後指標になりうることが示唆された。CRPC に至る機序についてはさまざまな報告があるが、アンドロゲン受容体(AR)に関わる経路が指摘されている。免疫組織化学的研究により、AR 発現は BGN 発現と強く相関していることが示唆されており、BGN が CRPC の進行に寄与する可能性がある。また、前立腺がんの腫瘍血管も BGN 発現陽性であり、腫瘍血管内皮細胞が分泌した BGN が血流で上昇している可能性が高い。前立腺がん患者において血清 PSA 値が CRPC への進展を規定せず、もし血清 BGN 値のみが CRPC への進展を規定しているとしたら、BGN はとても有用なマーカーとなり得る。

【結論】

前立腺がん原発巣において腫瘍由来因子の影響をうけた血管の血管新生能が亢進していることが示唆された。また、前立腺がん血管内皮細胞から分泌された BGN が腫瘍血管の増生に関わっている可能性が示唆された。前立腺摘出標本における BGN の分布が CRPC への進展や悪性度を規定する場合、前立腺がん治療の選択肢は拡大すると考えられ、さらに、がん間質に存在する BGN が治療標的となる可能性がある。