

(第3号様式)

学 位 論 文 要 旨

氏 名 渡辺 隆太

論 文 名 SPOP は前立腺癌細胞において DNA-protein クロスリンク修復に必須である : SPOP 依存的な TOP2A -DNA 複合体からの TOP2A の除去

学位論文要旨

前立腺癌は欧米において男性の癌の中で罹患数は1位、死亡数は2位と最も多い癌のひとつであり、日本でも罹患率が急速に増加している。進行性前立腺癌に対する治療の中心は現在もアンドロゲン受容体 (AR) を標的としたホルモン療法であるが、ホルモン療法に対して耐性化した去勢抵抗性前立腺癌への進行が極めて問題である。去勢抵抗性前立腺癌に対する分子標的薬は未開発であり、新規 AR 阻害剤も効果は限定的であるため、AR 以外を標的とした新規な前立腺癌特異的な分子標的薬の導出が急務である。

SPOP は 2012 年頃に前立腺癌の患者の 10-15 % で点変異が Nature で報告された。SPOP は CUL3 型ユビキチン (Ub) リガーゼの基質認識受容体で、SPOP が基質タンパク質と CUL3 と複合体を作る事で、基質を Ub 化する。SPOP の基質タンパク質として、現在までに約 30 分子が同定されており、アンドロゲン受容体 (AR)、DEK、DAXX、PTEN など、癌に関与する多数の基質が報告されている。野生型 SPOP には AR、ERG 等の基質が結合し、Ub 化が起こり、プロテアソームで分解制御されているが、前立腺癌由来 SPOP 変異体 (Y87C や F133V 等) には基質が結合できず、ユビキチン化が起こらない結果、プロテアソームでの分解が起こらず蓄積するため癌化が進行すると考えられている。現在、世界中の研究者が新規基質の同定に力を注いでいる現状である。

一方で、我々は前立腺癌で報告されている SPOP 変異体の一つ F133V を前立腺癌細胞で過剰発現させると、核の形態が異常になり、微小核を形成するという事を観察した。そこで我々は、

氏名 渡辺 隆太

今回の研究の中で DNA クロスリンク修復において重要な既知の因子について解析した。その結果、アンドロゲン受容体陽性前立腺癌において、SPOP 欠失によって核内・DNA 上のトポイソメラーゼ 2A (TOP2A)の量が増加することが分かった。SPOP ノックダウンにより、DNA 損傷を示す γ H2AX の量も同様に増加することが分かった。チロシル DNA ホスホジエステラーゼ-2 (TDP2)は TOP2A を TOP2A-DNA 複合体から切り離す酵素であり、このことが DNA 修復過程に必須である。我々は、SPOP 欠失細胞では TDP2 の量が減少していることを見出した。核内の γ H2AX や TOP2A の蓄積は、前立腺癌にて高頻度に見られる SPOP 変異体のひとつ、F133V 変異の過剰発現細胞でも同様に見られた。これらの結果は、TOP2A cleavage 複合体から TOP2A を切り離すことを通じて、SPOP が DNA クロスリンク修復過程に関与していることを示唆している。これまでに、外的な DNA 損傷に対する修復に SPOP が不可欠であるという報告はあったが、通常培養下の前立腺癌細胞における DNA 修復ストレスに対しても SPOP が極めて重要な働きをしていることを見出した。前立腺癌関連 SPOP 変異を発現している細胞では、DNA クロスリンク修復が正常に機能せず、これらの癌細胞のゲノム不安定性を引き起こす可能性が示唆される。

本研究で行った遺伝子組み換え実験は愛媛大学医学系研究科等遺伝子組換え実験安全委員会で承認されている (承認番号: 27-31)。外科的手術により摘出されたヒト前立腺癌腫瘍組織の使用にあたっては、愛媛大学臨床研究倫理審査委員会 (IRB)の承認を受けている。

キーワード (3~5)	SPOP, TOP2A, DNA crosslink repair, TDP1/TDP2, prostate cancer
-------------	---