

# 審査委員会報告書

【書式11】

令和 5年 8月 21日

申請者	フリガナ	オオタ ハヤト	生年月日	1993年 10月 16日生
	氏名	太田 隼人 (男・女)	国籍又は本籍	三重県
	学籍番号	18D5601	専攻名	生命情報工学専攻
論文題目		前立腺がんにおける3-O-硫酸化ヘパラン硫酸を介した 去勢抵抗性獲得機構の解明		
翻訳題目 (英文の場合のみ)				
審査 委員会 委員	(氏名) 印 (所属機関名) (役職名)			
	主査委員： 西原 祥子		印	創価大学大学院理工学研究科 教授
	委員： 高瀬 明		印	創価大学大学院理工学研究科 教授
	委員： 榎谷内 晶		印	創価大学大学院理工学研究科 教授
内容の要旨及び審査結果の要旨 最終試験の結果の要旨			別紙1	別紙2
博士学位申請論文の受付			受付日：令和 5年 6月 19日	
博士学位申請論文の受理			受理日：令和 5年 7月 5日	(可) ・ 不可
論文審査の可否			実施日：令和 5年 8月 10日	(合) ・ 否
最終試験の可否			実施日：令和 5年 8月 10日	(合) ・ 否
審査 委員会 の結論	審査委員会は、申請者である太田隼人の提出した学位論文について詳細な検討を行い、かつ、申請者の学力および研究能力に関する試問を行った。その結果、論文の内容が博士(工学)の学位に値するものであり、かつ、申請者が十分な学力と研究能力を有するものと認定した。			

審査委員会の審査及び最終試験の結果を受け、当該研究科委員会は以下の通り判定しました。

研究科委員会の判定	開催日：令和 5年 8月 25日		
	出席者数 27名	可数 27名	不可数 0名

最終可否 (合) ・ 否

学位記番号	博 (甲)・乙 204 号	授与年月日	令和 5年 9月 16日
学位の種類	博士 (工学)	備考	

研究科長 井田 旬一 (印)

## 内容の要旨及び審査結果の要旨

【書式11（別紙1）】

令和5年 8月 21日

氏名（本籍）	太田 隼人（三重県）
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	博甲第204号
学位記の授与日	令和5年9月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 創価大学大学院学則第31条第3項該当 創価大学学位規則第3条の3第1項該当
論文題目	前立腺がんにおける3-O-硫酸化ヘパラン硫酸を介した 去勢抵抗性獲得機構の解明
論文審査機関	工学研究科委員会
論文審査委員	主査委員 理学博士 西原 祥子 委員 獣医学博士 高瀬 明 委員 博士（薬学） 梅谷内 晶



### <論文の内容の要旨>

前立腺がんの増殖を抑制するために、アンドロゲン除去療法が一般的に行われるが、治療にもかかわらず、ホルモンに依存せず増殖する去勢抵抗性前立腺がん(astration-resistant prostate cancer: CRPC)が発症する場合がある。CRPCは、死に至る難治性がんの一つである。通常、前立腺がんは、アンドロゲン受容体(AR)シグナルにより増殖するが、CRPCではARシグナル以外のシグナル経路が増殖に関与している。一方、硫酸化グリコサミノグリカン(糖鎖)は、様々なシグナル経路において受容体へのリガンド結合を促進する共受容体として機能するが、CRPCにおける役割は不明であった。

本論文では、(1) CRPCモデルとなる複数の前立腺がん細胞を用いて、ホルモン非依存的条件下では、3-O-硫酸化ヘパラン硫酸(3-OS HS)の発現が増加し、上皮成長因子(EGF)の共受容体として働いて、EGFR-ERK1/2シグナルを活性化してがん細胞増殖を促進していることを新規に見出した。(2) さらに、去勢マウスを用いたCRPCの移植実験を行い、EGFR阻害剤であるgefitinibによる治療が、CRPCの増殖を抑制しうることを示した。本論文は、前立腺がんにおける新規な去勢抵抗性獲得メカニズムを解明し、それを標的とした新たな治療法を提案するものである。本論文は、序論、方法、結果、および、考察から構成されており、以下にその要旨を述べる。

### 序論

前立腺がんは男性の間で非常に罹患率の高いがんである。前立腺がんは、通常、アンドロゲンがアンドロゲン受容体(AR)に結合し、ホルモン依存的にシグナル伝達が行われることで増殖する。そのため、去勢などのアンドロゲン除去療法(ADT)が治療として行われる。しかし、一部のがん細胞はADTに耐性を持ち、ホルモン非依存的に増殖し、去勢抵抗性前立腺がん(CRPC)となる。現在のところCRPCに対する効果的な治療法は確立されていない。CRPCではARシグナル以外のシグナル経路が増殖に関与しているが、メカニズムの詳細は不明であった。

一方、細胞表面にある硫酸化グリコサミノグリカン(GAG)は、シグナル伝達に関わるリガンド分子の共受容体として重要な役割を担う。中でもヘパラン硫酸(HS)は、Fibroblast Growth Factor、Wnt、Bone Morphogenic Protein、Hedgehogなどの共受容体として機能する。HSは、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)とグルクロン酸(GlcA)の二糖繰り返し構造を持ち、様々な硫酸基転移酵素がこの二糖繰り返し構造に段階的に硫酸基を転移し、多様な硫酸化HS構造を作り出している。

本論文では、前立腺がん細胞が去勢抵抗性を獲得する機構、すなわち、ホルモン依存的増殖からCRPCのホルモン非依存的増殖に切り替わる分子メカニズムの解明を目的とした。



## 方法

ホルモン存在下と非存在下の両方で培養・増殖可能なヒト前立腺がん細胞株C4-2を用いて主に実験を行った。ホルモン非存在下で発現が顕著に増加した *HS 3-O sulfotransferase1* (*HS3ST1*)をsiRNAオリゴによりノックダウン(KD)し、(1) 免疫染色やフローサイトメトリーによる細胞表面の3-O-硫酸化ヘパラン硫酸(3-OS HS)の解析、(2) 細胞増殖アッセイ、(3) リガンド刺激による各種シグナルの解析などを行った。さらに、メカニズムの一般性を保証するために、他のCRPC細胞株PC3も用いて、同様な実験を行った。加えて、去勢されたヌードマウスを用いて、CRPCの異種移植腫瘍モデル実験を行い、gefitinibの治療効果を解析した。

## 結果と考察

C4-2細胞をホルモン非依存下で培養したところ、確かにホルモンに依存しない増殖を示した。EGFとheparin binding EGF (HB-EGF)の刺激に対応してリン酸化ERK1/2が顕著に増加し、C4-2細胞がEGFとHB-EGFを介したEGFR-ERK1/2シグナルにより、増殖していることがわかった。この時、硫酸化GAGの合成に関わる遺伝子のうち、*HS3ST1*が顕著な発現上昇を示すことが、RNA-seqとreal-time PCRにより明らかになった。そこで、*HS3ST1*をKDしたところ、細胞表面の3-OS HSの発現が減少してKD細胞の増殖速度は有意に低下し、*HS3ST1*が合成する3-OS HSがC4-2のホルモン非依存的な増殖に必要であることがわかった。同時に、KD細胞では、EGFとHB-EGFの刺激に対応するリン酸化ERK1/2の発現が顕著に低下し、3-OS HSが、EGFとHB-EGFによるEGFR-ERK1/2シグナルの活性化に必要であることが示された。以上の結果から、ホルモン非依存的な増殖において、3-OS HSがEGFとHB-EGFの共受容体としてEGFR-ERK1/2シグナルを活性化することが分かった。さらに、ARを発現しないCRPC細胞株であるPC3細胞を用いて同様の実験を行い、3-OS HSを介したEGFRシグナルの活性化がホルモン非存在下の増殖を決定しているという新たな事実を明らかにした。

加えて、CRPCにおけるEGFRシグナルを標的とした治療の可能性も、ヌードマウスを用いた異種移植腫瘍モデルにより検討した。ホルモンを除去した条件における腫瘍の増殖へのgefitinibの効果は非常に大きく、CRPCのホルモン非依存的増殖はEGFRシグナルに依存していることがさらに、証明された。

本論文では、ARシグナルから3-OS HSを介したEGFRシグナルに切り替わることにより前立腺がんが去勢抵抗性を獲得する機構を新規に明らかにした。この切り替わりは、ARが転写抑制因子として*HS3ST1*の発現を制御していることが鍵になっていると考えられた。また、副作用が少ない分子標的薬であるgefitinibがCRPCの治療に効果的であることも示しており、前立腺がんに対するホルモン除去療法と同時にgefitinibを投与することで、3-OS HSを介したEGFRシグナルへの切り替えが抑制され、前立腺がんの去勢抵抗性獲得が予防されると期待された。

### <論文審査結果の要旨>

本論文では、アンドロゲンシグナルから3-O-硫酸化ヘパラン硫酸を介したEGFRシグナルに切り替わることにより前立腺がんが去勢抵抗性を獲得する機構を新規に明らかにした。新規機構を証明する十分なデータも有し、また、gefitinibを用いた新規治療法の提案もしている。難治性がんの治療への応用も期待できる。以上の理由で、本論文は学位論文に値する内容であると認定する。

なお、本論文の結果は、以下の学術雑誌に掲載された。

Switching mechanism from AR to EGFR signaling via 3-O-sulfated heparan sulfate in castration-resistant prostate cancer.

Ota H, Sato H, Mizumoto S, Wakai K, Yoneda K, Yamamoto K, Nakanishi H, Ikeda JI, Sakamoto S, Ichikawa T, Yamada S, Takahashi S, Ikehara Y, Nishihara S.




Sci Rep. 2023 Jul 18;13(1):11618. doi: 10.1038/s41598-023-38746-x. PMID: 37463954

IF=4.9 (2022-2023)

# 最終試験の結果の要旨

【書式11（別紙2）】

令和5年 8月 21日

フリガナ 申請者氏名	オオタ ハヤト 太田 隼人	専攻名	生命情報工学 専攻
審査委員会委員	主査委員	西原 祥子	
	委員	高瀬 明	
	委員	榎谷内 晶	
要旨			
<p>最終試験は、上記3名の審査委員により、令和5年8月10日に実施し、学位申請者に対して、研究内容に関する試問を行った。その結果、申請者は、博士（工学）としての十分な学力と研究能力を有するものと判定された。したがって、審査委員会は、最終試験を合格と認定した。</p>			