

Title	Prostate cancer mediates osteoclastogenesis through two different pathways
Author(s)	井上, 均
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46256">https://hdl.handle.net/11094/46256</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	井上 均
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 19689 号
学位授与年月日	平成 17 年 4 月 28 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Prostate cancer mediates osteoclastogenesis through two different pathways (前立腺癌は 2 つの異なる経路で破骨細胞生成を誘導する)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦  (副査) 教授 吉川 秀樹 教授 野口眞三郎

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

前立腺癌はその高い罹患率と死亡率のため欧米諸国においては社会的な関心事となっている。我が国においても前立腺癌の罹患率、死亡率は近年急速に増加しており、将来が憂慮される。前立腺癌は骨に転移しやすい癌であり、骨転移は前立腺癌の主な死因のひとつである。前立腺癌は X 線上主に造骨性転移を示すが、骨転移巣は初期段階では骨吸収所見が優位であることが知られている。破骨細胞は酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 陽性の多核の巨大細胞であり、骨吸収を引き起こす唯一の細胞である。生体内での骨吸収は骨芽細胞/間質細胞において生成される破骨細胞分化因子 (RANKL) とその decoy receptor である破骨細胞分化抑制因子 (OPG) のバランスに支配されていると考えられている。今回前立腺癌細胞の破骨細胞形成に及ぼす影響について検討した。

## 〔 方 法 〕

マウス骨芽細胞様細胞株、MC3T3-E1 を subconfluent になるまで培養後、4 種類のヒト前立腺癌細胞株 (LNCaP、DU145、PC3、MDA PCa 2b) より得られた conditioned medium (CM) を添加した。1 時間後、MC3T3-E1 細胞を回収、RNA を抽出した。RANKL と OPG の発現を RT-PCR 法、発現比を real-time RT-PCR 法により評価した。さらに MC3T3-E1 と前立腺癌細胞株を coculture し、MC3T3-E1 における RANKL と OPG の発現比を real-time RT-PCR 法により評価した。

次に 5 週齢の ddY マウスより骨髄を採取し、soluble RANKL (sRANKL) および MCSF (macrophage colony stimulating factor) 存在下に培養、3 日後付着した細胞を pipetting のうえ別の dish に植え直し破骨細胞前駆細胞とした。これに MCSF および前立腺癌細胞株より得られた CM を加え、RANKL の存在下または非存在下にさらに 4-5 日間培養した。ホルマリン固定後、酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ (TRAP) 陽性の多核 (3 個以上) 細胞数を count した。

破骨細胞前駆細胞に前立腺癌細胞株より得られた CM を加え、MCSF 存在下に 4 日間培養し、破骨細胞の活性化に重要なプロテアーゼの 1 つである MMP-9 の発現を RT-PCR 法により評価した。

## 〔 結 果 〕

LNCaP、DU145、PC3、MDA PCa 2b より得られた CM を添加することにより、MC3T3-E1 からの RANKL の発現は増加した。一方、OPG の発現は変化しなかった。RANKL/OPG の発現比を real-time RT-PCR 法を用いて定量したところコントロールと比べて 5.1 倍、4.0 倍、2.7 倍、1.8 倍と増加していた。Coculture においても同様の結果が得られた (各々 3.0 倍、2.6 倍、3.1 倍、1.7 倍)。以上より前立腺癌細胞株より分泌されるサイトカインあるいは蛋白が骨芽細胞からの RANKL の発現を増大させると考えられた。

破骨細胞前駆細胞を sRANKL および MCSF 存在下に培養したところ、LNCaP、DU145 より得られた CM を加えることにより TRAP 陽性多核細胞の形成は著明に促進された。一方、PC3、MDA PCa 2b より得られた CM は破骨細胞の生成に影響しなかった。LNCaP、DU145 より得られた CM による多核破骨細胞の形成は過剰量の OPG を添加しても完全には阻害されなかった。これらの CM は RANKL 非存在下においても破骨細胞前駆細胞から TRAP 陽性多核細胞への分化を誘導していた。

DU145 より得られた CM は破骨細胞前駆細胞からの MMP-9 の発現を増大させた。

#### [ 総 括 ]

前立腺癌細胞は 1. 骨芽細胞からの RANKL 発現誘導を介して、あるいは、2. 破骨細胞前駆細胞そのものにはたらきかけて、破骨細胞の生成を誘導すると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

わが国における前立腺癌の罹患率、死亡率は近年増加傾向にある。また、骨転移は前立腺癌の主な死因のひとつである。前立腺癌は X 線上主に造骨性転移を示すが、組織学的には骨吸収所見が認められる。

本研究では、ヒト前立腺癌細胞株のマウス破骨細胞分化に及ぼす影響について検討した。その結果、前立腺癌細胞は、マウス骨芽細胞からの RANKL (receptor activator of NF  $\kappa$ B ligand) 発現誘導を介して破骨細胞の生成を促進することが明らかになった。さらに前立腺癌細胞は、マウス破骨細胞前駆細胞そのものにはたらきかけて、RANKL 非依存的に破骨細胞の maturation を誘導しうるということが明らかになった。

以上は前立腺癌細胞による破骨細胞の分化促進能についての新しい知見であり、学位に値するものと認める。