

Title	Cadherin-11-mediated interactions with bone marrow stromal /osteoblastic cells support selective colonization of breast cancer cells in bone.
Author(s)	田村, 太資
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49937">https://hdl.handle.net/11094/49937</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"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</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	田村太資
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22463 号
学位授与年月日	平成20年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Cadherin-11-mediated interactions with bone marrow stromal/osteoblastic cells support selective colonization of breast cancer cells in bone.  (カドヘリン11を介した骨髄間葉系細胞との接着が乳癌細胞の骨への選択的滞留を促進する)
論文審査委員	(主査) 教授 吉川 秀樹  (副査) 教授 月田早智子 教授 野口眞三郎

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

乳癌骨転移におけるカドヘリン11の果たす役割について検討する。

## 〔 方法ならびに成績 〕

骨特異的に発現するカドヘリン11の癌骨転移における役割を検討するために、ヒト乳癌細胞株MDA-MB-231細胞にカドヘリン11遺伝子を恒常的に導入した細胞株MDAカドヘリン11(以下MDA/Cad11)を樹立、またカドヘリン11遺伝子のsplice variantで細胞内領域を欠失し、カドヘリン本来の接着能を有さず、正常型カドヘリン11の細胞間接着を抑制するvariant型カドヘリン11遺伝子を恒常的に導入した細胞(以下MDA/Var)を樹立し、左心室内接種モデルによる骨転移能の検討を行った。さらに骨以外の臓器への転移でのカドヘリン11の役割を、尾静脈接種肺転移モデルを用いて検討した。

樹立した細胞株は増殖能において親株との差を認めなかった。細胞凝集能において、MDA/Cad11は親株に比して細胞凝集能が増大していたが、MDA/Varは親株より細胞凝集能が低下していた。左心室内接種モデルにおいて接種後4週のレントゲン写真を用い、骨転移形成数・骨溶解部面積を計測したところ、MDA/Cad11では親株と比較して骨転移数・骨溶解部面積とも有意な増加が認められた。

組織学的検討にてMDA/Cad11では親株と比較して腫瘍面積の有意な増大を認め、MDA/Cad11の骨転移巣ではTRAP陽性の破骨細胞数の有意な増加が認められた。一方MDA/varは親株と比較して骨転移形成が抑制されており、骨転移巣周囲にTRAP陽性破骨細胞数の増加も認めなかった。またカドヘリン11の過剰発現は肺転移に対しては変化を与えなかった。

これらの結果よりカドヘリン11の転移促進作用が骨特異的である可能性が示唆された。

骨転移巣組織像を免疫組織学的に検討すると、乳癌細胞はカドヘリン11を発現する骨髄間葉細胞と破骨細胞との密接に接触しており、カドヘリン11の骨への転移促進作用にはこの三者が密接

に関与していると考えられた。

癌細胞のカドヘリン11発現増加が骨転移を特異的に増加させるメカニズムを解明するために、まず骨転移初期における癌細胞の骨髄内へ滞留に対する影響を検討した。方法として蛍光色素標識腫瘍細胞を左心室内接種後に両下肢骨の骨髄細胞をすべて回収、その中に存在する腫瘍細胞数をFACSで計測した。またカドヘリン11を発現する腫瘍細胞と骨芽細胞系細胞との接着が腫瘍細胞の走化性に与える影響についてtranswellを用いて検討した。さらに動物実験においてMDA/Cad11の骨転移巣で破骨細胞数の有意な増加が認められたことから、腫瘍細胞と骨芽細胞系細胞とのカドヘリン11を介した接着と破骨細胞形成促進因子の産生との関連についてMDA231細胞と骨芽細胞との共培養上清をマウス骨髄培養系に添加し、形成されたTRAP陽性破骨細胞様細胞数を計測することによる破骨細胞形成支持能で評価した。

骨髄内滞留実験において、48時間後の両下肢骨髄内に滞留している腫瘍細胞数はMDA/Cad11で親株に比して有意に増加していたがMDA/Varでは親株に比して有意に減少していた。このことよりカドヘリン11が癌細胞の骨転移初期における骨髄内滞留を促進することが示唆された。

走化性の実験においてはMC3T3-E1細胞と培養した場合にMDA/Cad11の移動細胞数が親株に対して有意に増加した。この増強効果はNIH3T3細胞との培養では認められなかった。このことより癌細胞の走化性は骨芽細胞、骨髄間葉系細胞とのカドヘリン11を介した接着により促進されることが示唆された。

破骨細胞支持能を評価した実験において、まず骨転移形成に最も重要な破骨細胞形成促進因子とされるPTH-rPの癌細胞による産生についてRT-PCRで検討したところ、MDA/Cad11とMC3T3-E1細胞とを共培養した場合においてのみ、PTH-rP mRNAの著しい発現上昇を認めた。またマウス骨髄培養系にこの共培養から得られた培養上清を加えたところ、カドヘリン11を発現しないNIH3T3細胞とMDA/Cadとの共培養上清を添加した場合に比べて、TRAP陽性破骨細胞様細胞の形成が促進された。さらに破骨細胞様細胞形成促進効果はPTH-rP中和抗体添加により抑制された。これらの結果よりカドヘリン11を介した癌細胞と骨芽細胞・骨髄間葉系細胞との接着によって癌細胞でのPTH-rP産生が増加、破骨細胞形成が促進される可能性が示された。

## 〔 総 括 〕

以上の結果より、癌骨転移においてカドヘリン11を介した癌細胞と骨芽細胞・骨髄間葉系細胞との接着により、癌細胞の走化性が亢進し、癌転移初期における癌細胞の骨髄内での滞留が増加するが示唆された。また癌細胞から産生されるPTH-rPなどの破骨細胞形成活性化因子が産生亢進することで癌骨転移形成をさらに促進すると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

カドヘリン11は本来骨芽細胞・骨髄間葉細胞に特異的に発現する接着分子であるが、悪性度の高い癌にも発現することが知られている。本研究では癌骨転移における骨髄間葉細胞と癌細胞との相互作用に注目し、カドヘリン11の乳癌骨転移における役割について検討している。カドヘリン11を恒常的に発現するMDA-MB-231乳癌細胞株を樹立、骨転移能について親株と比較した。カドヘリン11過剰発現により骨転移数・骨溶解部面積・骨転移腫瘍面積すべて増大し、転移巣周囲の破骨細胞数も増加した。一方肺転移能の評価ではカドヘリン11過剰発現による影響は認めなかった。

カドヘリン11が骨特異的に転移を亢進させる機能を解明するために、カドヘリン11過剰発現が癌細胞の走化性・骨髄内滞留能・破骨細胞形成支持能に与える影響について検討した。カドヘリン11過剰発現は骨芽細胞との接触時においてのみ癌細胞の走化性を亢進させ、癌細胞接種初期における下肢長管骨骨髄内での癌細胞の滞留を増強させ、癌細胞でのPTH-rPの産生を増加させた。これらの機能によりカドヘリン11は癌骨転移を促進すると考えられた。

癌骨転移におけるカドヘリン11のkey moleculeとして重要性を示し、カドヘリン11による接着の阻害にて骨転移を抑制できうることを示唆したことより、本研究は学位に値すると考える。