

論文の内容の要旨

論文題目 前立腺癌細胞の増殖における骨形成因子
(BMP)シグナルの機能解析

指導教官 北村唯一 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成13年4月 入学

医学博士課程

外科学専攻

氏名 宮寄 英世

前立腺癌は本邦において 1970年のデータでは年齢調整死亡率(対10万人)が2.0以下であったが、1999年には10.0を超えており増加傾向の著しい癌のひとつとなっている。また欧米において男性における癌死の原因として第2位の癌であり、さかんに研究が進んでいるにもかかわらず、癌化、悪性を調節する機構にはまだ解明されていない点が多く残されている。前立腺癌細胞の増殖はいろいろなステロイドホルモンや成長因子によっ

て調節されていることが報告されている。骨形成因子 [bone morphogenetic protein (BMP)] は、その受容体の発現が前立腺癌の悪性度と逆相関の関係にあることが報告されており、また前立腺癌骨転移巣において BMP-6,7 の発現が上昇していることが報告されていることから、前立腺癌の発生および進展に重要な役割を果たしていることが示唆されている。また *in vitro* の系においては、10%胎児牛血清[fetal bovine serum (FBS)] 存在下において BMP-2 はアンドロゲン依存性前立腺癌細胞株 LNCaP 細胞の増殖は抑制するが、アンドロゲン非依存性前立腺癌細胞株 PC-3 および DU-145 細胞の増殖は抑制しないという報告がされている。

本研究では、BMP-7 が1% 胎児牛血清存在下で、アンドロゲン非依存性の前立腺癌細胞株 PC-3 および DU-145 細胞の増殖を抑制することを、 $[^3\text{H}]$ -チミジンの取り込みと細胞数を指標にして示した。血清濃度による BMP-7 の増殖抑制作用の違いについて検討するため、血清濃度が細胞内シグナル伝達に与える効果を解析したところ、10%胎児牛血清存在下で BMP-7 を作用させると 1% 胎児牛血清存在下に比べて、細胞

内のシグナル伝達因子である Smad1/5 のリン酸化が低いことが示された。BMP-7 の効果に違いが生じる原因として、血清中に BMP 活性を阻害する因子が含まれるか、あるいは血清中の何らかの因子により BMP 活性を阻害する因子が誘導されていることが示唆された。

さらに BMP-7 による増殖抑制の機構について解析した。フローサイトメトリーを用いた細胞周期の解析では BMP-7 刺激によって G1期の細胞の割合が増加し、S 期、G2/M 期の細胞の割合が減少していた。BMP-7 は cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKI) のひとつである p21^{CIP1/WAF1} の発現を上昇させ、Cdk2 のキナーゼ活性を抑制し、Rb 蛋白のリン酸化を抑制することで、G1 arrest を生じさせることが示唆された。

次に BMP シグナルの前立腺癌の腫瘍形成における役割を調べるため、前立腺癌細胞株 PC-3 細胞にテトラサイクリン発現誘導システムを導入し、恒常的活性型のBMP IB 型受容体 (c.a.ALK-6) を発現する株を樹立した。テトラサイクリン/ドキシサイクリンの制御による c.a.ALK-6 の発現により、*in vitro* における細胞増殖が抑制され、またヌードマウスの皮下に注射して形

成させた腫瘍の重量が抑制された。以上より BMP シグナルはアンドロゲン非依存性の前立腺癌の増殖、腫瘍形成に対しても抑制的に働くことが明らかとなった。