

## 財団法人 日中医学協会

2009 年度共同研究等助成金報告書－在留中国人研究者－

2010 年 3 月 6 日

財団法人 日中医学協会 御中

貴財団より助成金を受領して行った研究テーマについて報告いたします。

添付資料：研究報告書

中国人研究者氏名： 王 麗楊

指導責任者名： 米田 俊之

所属部署名：

職名：特任研究員

阪大・歯学研究科・生化学

所在地：大阪府吹田市山田丘 1-8

電話：06-6879-2887

内線：2887



1. 助成金額： 600000 円

2. 研究テーマ

### 前立腺がんの造骨性骨転移のメカニズム解明

3. 成果の概要 前立腺癌は高頻度に造骨性骨転移を示す。癌遺伝子 STAT3

の恒常的活性化によるレプチンの産生増加は自己/傍分泌性に前立腺癌の造骨

性増大に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

4. 研究業績

(1) 学会における発表 無・㊦(学会名・演題)

第 27 回日本骨代謝学会 ヒト前立腺癌細胞 LNCaP における STAT3 の活性化は  
26th naito confrence レプチンの産生増加を介して造骨性骨転移を促進する

第 31 回米国骨代謝学会 (ASBMR) **STAT3 causes osteoblastic bone metastases  
in the LNCaP human prostate cancer cells through promoting leptin production.**

(2) 発表した論文 ㊦・有(雑誌名・題名)

## 前立腺がんの造骨性骨転移のメカニズム解明

研究者 氏名	王 麗楊
中国所属機関	中国医科大学
日本研究機関	大阪大学歯学研究科
指導責任者	教授 米田 俊之
共同 研究者	相野 誠

### 要旨

近年日本の男性において急増している前立腺がんは死亡率の第 2 位にランクされている。80%以上の前立腺癌は造骨性の骨転移を示し、患者の QOL および生存期間を著しく低下させる。前立腺がん発生のメカニズムには未だ不明な点が多く、それらを解明するために、動物モデルの確立は不可欠だ。しかしながら、そのような動物モデルはまだ開発されていない。そこで、われわれはまず前立腺の造骨性骨転移の動物モデルの確立を試みた。様々な実験を行った結果、ヒト前立腺がん細胞 LNCaP に恒常的活性化型 STAT3 を過剰発現させた LNCaP/caStat3 細胞を樹立した。この細胞をオスヌードマウスに心注すると、造骨性の骨転移が見られた。したがって、STAT3 の恒常的活性化は前立腺癌の造骨性骨転移を惹起させることが明らかとなった。STAT3 はガン遺伝子であり、恒常的活性化と前立腺がんの悪性度、あるいは転移能との関連がすでに報告されている。前立腺がん発生のメカニズムには未だ不明な点が多いが、危険因子として肥満が知られている。本研究では、前立腺癌の造骨性骨転移における Stat3、ならびに肥満原因遺伝子の一つであるレプチンの関与について検討した。がん遺伝子 Stat3 の恒常的活性化によるレプチンの産生増加が前立腺がんの造骨性骨転移の成立、進展に重要な役割を果たしていることが示唆された。また本研究により肥満と前立腺がん発生との関連の分子基盤の一端が明らかとなった。

**Key words** 前立腺ガン, 骨転移, 肥満, レプチン, STAT3

### 緒言:

近年男性において、急増している前立腺がんは 80%以上が造骨性の骨転移を示し、患者の QOL および生存期間を著しく低下させる。前立腺がん発生のメカニズムには未だ不明な点が多いですが、危険因子として肥満が知られている。前立腺がん患者の血中 leptin が増加していること、また高濃度のレプチンは前立腺癌の進展に関与すること、さらに、ヒト前立腺癌に leptin 受容体が発現することが報告された。一方、leptin の下流因子である STAT3 はがん遺伝子であり、恒常的活性化と前立腺がんの悪性度、あるいは転移能との関連が示唆されている。そこで本研究では前立腺がんの造骨性骨転移にお

ける leptin および STAT3 の役割を検討した。

#### **対象と方法:**

1. 最初の実験として、LNCaP 細胞における leptin signaling について検討した。
2. STAT3 の役割を詳細に検討するために、LNCaP に恒常的活性型 STAT3 を過剰発現させた LNCaP/caStat3 細胞を樹立し、皮下移植モデルと脛骨骨髓内移植モデルを作成した。
3. LNCaP/caStat3 細胞から産出するレプチンは造骨性増大に関与するかどうか、また leptin は autocrine 増殖因子であるかどうかについて、検討した。
4. レプチンの造骨性増大の促進するメカニズムを検討するために、ヒト顎骨細胞由来、初代培養骨芽細胞様細胞である HAOB 細胞を樹立した。

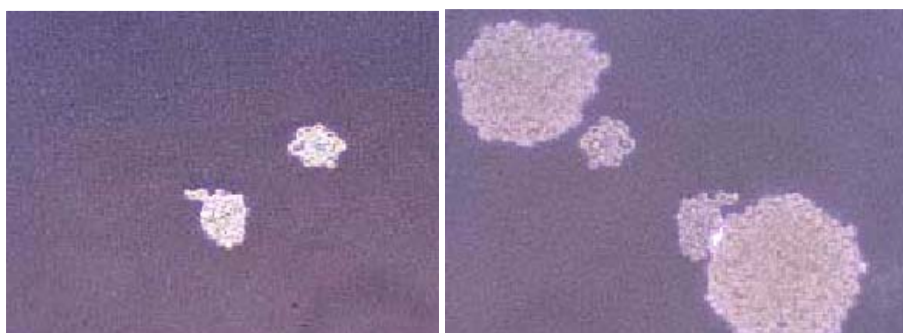
#### **結果:**

1. leptin は stat3 のリン酸化を時間依存的に促進した。この結果より、LNCaP 細胞は、機能的な leptin 受容体を有していることが示唆された。また、leptin は LNCaP 細胞の増殖を促進した。さらにこの効果は STAT3 の阻害剤 AG490 により、抑制された。
2. LNCaP/Stat3 細胞は、高い増殖能を示し、またオスヌードマウスの皮下に移植すると、腫瘍形成を認めした。一方 LNCaP/EV 細胞は腫瘍原性を示していなかった。さらに脛骨骨髓に注入すると、腫瘍の造骨性増大を呈した。一方 LNCaP/EV 細胞はこの効果を示していなかった。
3. LNCaP/Stat3 担癌動物においては、血中の人 leptin 濃度が著名に上昇していた。それに一致して、骨内で増大する LNCaP 腫瘍は leptin 受容体発現が増加していた。また MicroArray 法によっても LNCaP/caSTAT3 細胞の leptin 受容体の発現増加が確認された。
4. LNCaP/caStat3 細胞は骨髓中で、著名な造骨性増大を示したが、leptin 中和抗体処理により、この効果は阻害された。
5. さらにレプチンアンタゴニスト及び中和抗体は LNCaP/caStat3 細胞の増殖を抑制した。したがって、レプチンは前立腺がんにおいて autocrine growth factor であることが示唆された。
6. LNCaP/caStat3 の培養上清は、HAOB 細胞の分化及び石灰化を促進した。これらの効果はレプチンアンタゴニストの添加により消失した。
7. leptin は LNCaP/caStat3 培養上清と同様に HAOB の分化を促進した。
8. このようなレプチンの作用の分子メカニズムを検討した結果、leptin は STAT3 及び ERK のリン酸化を促進することが、western 法や免疫蛍光法により、示された。
9. さらに、STAT3 の inhibitor AG490 および ERK の inhibitor U0126 は、leptin により増強された HAOB 細胞のアルカリホスファターゼ活性を抑制した。以上の結果より、leptin による STAT3 及び ERK の活性化が骨芽細胞の分化に密接に関与することが示唆された。



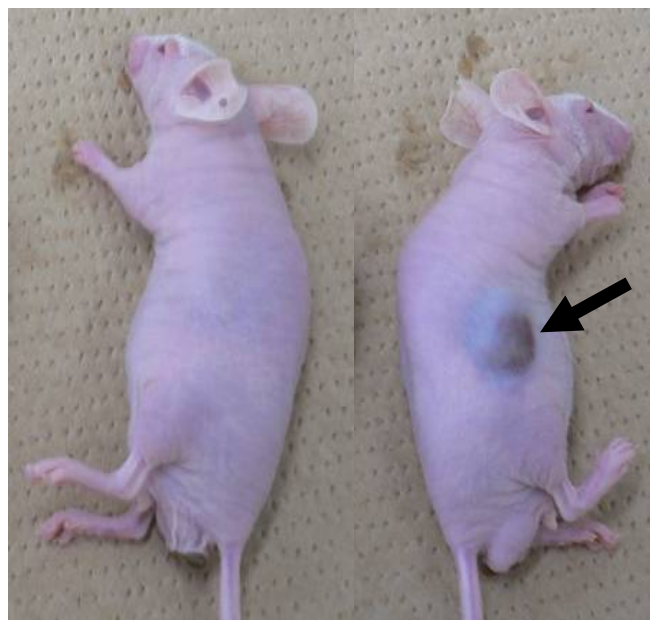
**考察:**

ヒト前立腺癌 LNCaP 細胞において、がん遺伝子 Stat3 の恒常的活性化はレプチン産生およびレプチン受容体の発現増加を誘導することがわかった。leptin は autocrine 因子として前立腺癌細胞の増殖を促進し、一方 paracrine 因子として骨芽細胞の分化を促進することにより、前立腺がんの造骨性増大の成立、進展に重要な役割を果たしていると考えられる。STAT3 および ERK の活性化はレプチンの骨芽細胞調節機構に関わることが明らかとなった。また本研究により肥満に伴う血中 leptin 濃度の上昇は、前立腺がんの造骨性増大を促進することが示唆され、したがって肥満と前立腺がん発生との関連の一端が示唆された。



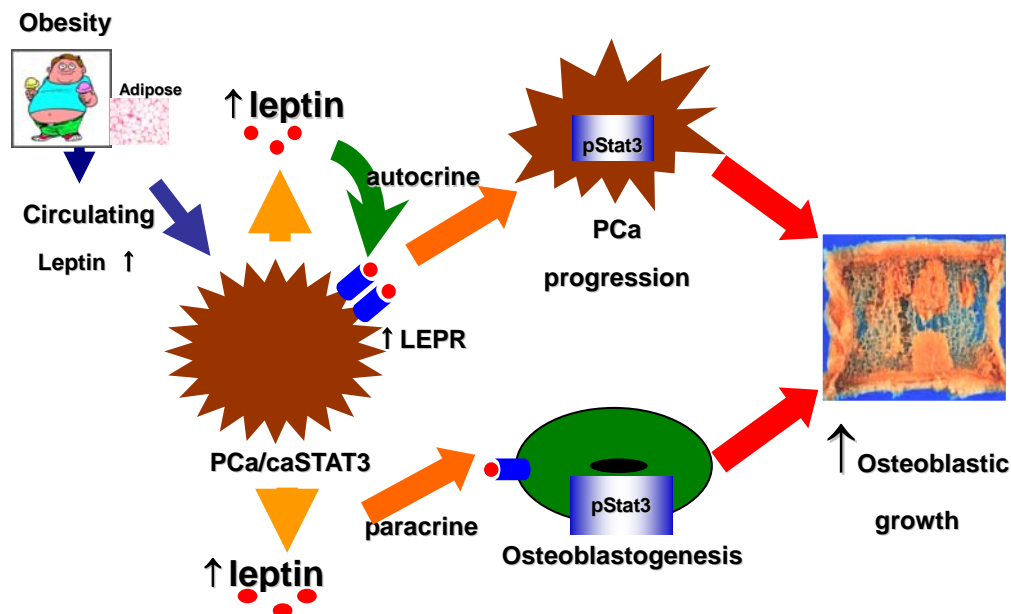
**EV**

**caSTAT3**



**EV**

**caSTAT3**



**参考文献:**

1. Abdulghani J et al., Stat3 promotes metastatic progression of prostate cancer. Am J Pathol. 2008 172:1717-28.
2. Sharma D et al., Leptin promotes the proliferative response and invasiveness in human endometrial cancer cells by activating multiple signal-transduction pathways. Endocr Relat Cancer. 2006 13:629-40.
3. Baillargeon J et al., Obesity, adipokines, and prostate cancer in a prospective population-based study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006 15:1331-5.
4. Gade-Andavolu R et al., Molecular interactions of leptin and prostate cancer. Cancer J. 2006; 12:201-6.
5. Handschin AE et al., Leptin increases extracellular matrix mineralization of human osteoblasts from heterotopic ossification and normal bone. Ann Plast Surg. 2007;59:329-33.

注: 本研究は、2009年7月25日<第27回日本骨代謝学会>にて口演発;  
2009年9月13日<第31回米国骨代謝学会(ASBMR)>にて口演  
発表 2009年11月6日<第26回Naito学会>にてポスター発表

作成日:2010年3月9日