

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700967

研究課題名(和文) 前立腺癌骨転移の分子メカニズムの解明

研究課題名(英文) Molecular mechanism of prostate cancer metastasis to bone

研究代表者

江幡 正悟 (Ehata, Shogo)

東京大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：90506726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：癌の骨転移の成立には癌細胞と骨微小環境との相互作用が重要である。しかしながら前立腺癌の造骨性骨転移では、両者の相互作用の分子メカニズムがまだ十分に解明されていない。そこで本研究では、前立腺癌細胞と間質細胞との相互作用におけるbone morphogenetic protein (BMP)の役割について調べた。前立腺癌細胞はBMPを介して間質細胞の骨芽細胞分化を促進し、一方で間質細胞はBMPを介して前立腺癌細胞の生存を促す、といったBMPを介した両者の相互作用が前立腺癌の造骨性骨転移の成立に重要である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Functional interactions between cancer cells and the bone microenvironment contribute to the development of bone metastasis. Although the bone metastasis of prostate cancer is characterized by increased ossification, the molecular mechanisms involved in this process are not fully understood. Here, the roles of bone morphogenetic proteins (BMPs) in the interactions between prostate cancer cells and bone stromal cells were investigated. Our findings suggest that BMPs provide favorable circumstances for the survival of prostate cancer cells and the differentiation of bone stromal cells in the bone microenvironment, possibly leading to the osteoblastic metastasis of prostate cancer.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学、腫瘍生物学

キーワード：転移

1. 研究開始当初の背景

泌尿器科診療の現場において、前立腺特異抗原 (Prostate specific antigen; PSA) が普及して以来、わが国の前立腺癌の患者数は増加している。病期の診断の後に、局所限局癌では経過観察や外科的手術や放射線照射などが選択され、癌細胞が前立腺被膜外に浸潤が疑われる場合や、多臓器への転移が認められる場合には、内分泌治療が選択される場合が多い。アンドロゲン除去療法を中心とした現行の内分泌治療では、治療開始当初は奏功性を認めるが、癌細胞を取り巻くホルモン環境の変化が、前立腺癌細胞におけるアンドロゲンレセプターの発現亢進を招き、最終的にホルモン不応性前立腺癌に至り、多くの場合に癌細胞の全身骨への転移が避けられない状態となる。

骨転移病変に対しては、ビスフォスフォネート製剤の投与や、局所的な放射線照射などで姑息的に治療されることもあるが、その病勢を根本的に止めることには至っていない。これらの現状から、前立腺癌細胞の骨転移の分子メカニズムの解明、特に新たな治療標的となる key molecule を同定することが急務となっている。

2. 研究の目的

前立腺癌の骨転移の分子メカニズムに対する知見は必ずしも多くはない。前立腺癌の骨転移の成立に関わる分子を明らかにする。これらの解析から新規骨転移関連候補遺伝子を想定する。

3. 研究の方法

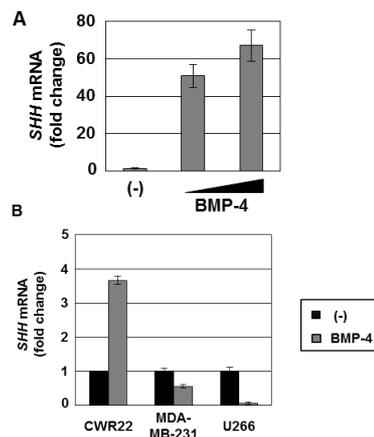
(1) 当初は、*in vivo* 発光イメージングシステムを用い、前立腺癌高骨転移細胞株を樹立し、それらの細胞株の形質を解析することで、従来からの課題を克服しようと考えた。ところが、*in vivo* 発光イメージングシステムの導入は成功したものの、想定した分量の高骨転移細胞株を分取することが容易ではなく、この戦略による key molecule の同定を断念せざるをえなかった (なお、ここで得られたノウハウは他の種類の癌を対象にした研究では有用性が高いと考えている)。

(2) そこで、癌の骨転移の成立に重要とされる、癌細胞と骨微小環境との相互作用に焦点をあてた。特に、他臓器由来癌の骨転移で重要とされている既知の分子 (Parathyroid hormone-related protein (PTHrP)、Transforming growth factor-beta (TGF-beta) など) に関して重点的に機能解析を行ったところ、前立腺癌細胞の造骨性骨転移の形成には、TGF- β ファミリーのリガンドのひとつである Bone morphogenetic protein (BMP) が重要であることが判明した。よって、以降の本研究では、骨微小環境における前立腺癌細胞と間質細胞との相互作用、とりわけ BMP を介したシグナル伝達の機能を

詳細に調べることで、転移に重要な molecular mechanism の同定を試みることにした。

4. 研究成果

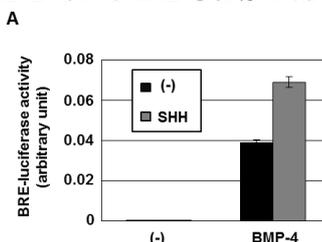
(1) まず、ヒト前立腺癌細胞 (LNCaP および CWR22) がでは BMP に応答して Sonic hedgehog (SHH) が発現誘導されることに着目した (図 1A)。この発現誘導は、溶骨性骨転移を示す乳癌細胞では観察されず、前立腺癌細胞に特異的に観察されたため (図 1B)、BMP と SHH のシグナルクロストークが前立腺癌細胞の造骨性骨転移の形成に重要なのではないかと考えられた。

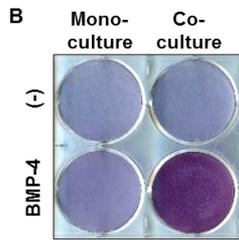


(図 1) A. 前立腺癌細胞 LNCaP に BMP-4 刺激を行い、SHH mRNA の発現誘導を確認した。B. 同様の発現誘導は他の前立腺癌細胞 CWR22 でも再現される一方で、乳癌細胞 MDA-MB-231 や多発性骨髄腫細胞 U266 では観察されなかった。

(2) 次に、マウス間質細胞 MC3T3-E1 に対して BMP-4 と SHH の共刺激を行い、細胞応答を観察した。この結果、SHH によって MC3T3-E1 細胞における一部の BMP 受容体 (Activin receptor IIB (ActRIIB)) や、Smad1 などの BMP シグナル伝達因子の発現が亢進し、BMP に対する感受性が高まり (図 2A)、この機構により BMP-4 と SHH が協調的に MC3T3-E1 細胞の骨芽細胞分化を促進させることが判明した。

また、MC3T3-E1 細胞の単独での培養に比べて、MC3T3-E1 細胞と LNCaP 細胞の共培養においては、LNCaP 細胞が BMP 依存的に産生する SHH を介して、MC3T3-E1 細胞の骨分化をより促進させていることもわかった (図 2B)。

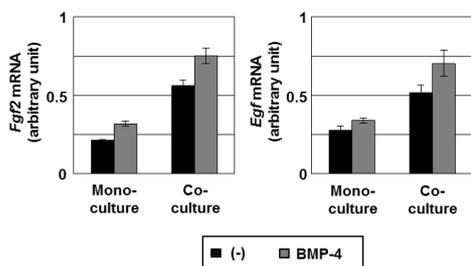




(図2) A. 間質細胞 MC3T3-E1 では、SHH 刺激により、BMP 応答性レポーター活性が上昇した。

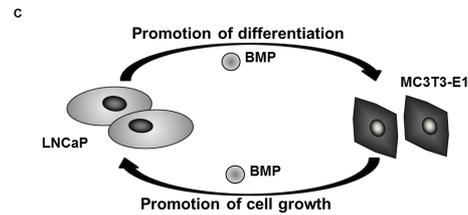
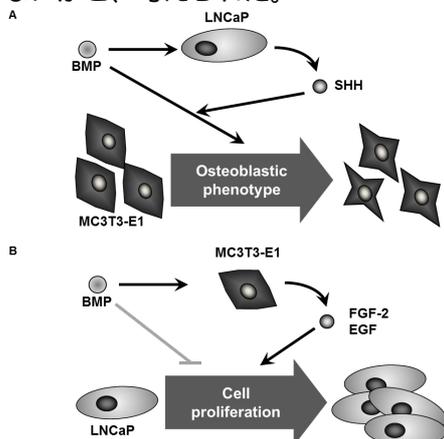
B. MC3T3-E1 細胞における BMP-4 依存的な骨芽細胞分化(ここではアルカリフォスファターゼ産生)が、LNCaP との共培養により促進された。

(3) さらに、LNCaP 細胞と共培養した MC3T3-E1 細胞は、BMP-4 依存的に Fibroblast growth factor-2(FGF-2)や Epidermal growth factor (EGF) など、種々の増殖因子を産生し(図3)、これらの増殖因子が LNCaP 細胞の増殖を助けていることもわかった。



(図3) LNCaP 細胞と共培養した MC3T3-E1 細胞は、BMP-4 依存的な増殖因子(FGF-2 mRNA、EGF mRNA)産生が亢進していた。

(4) これらの結果より、前立腺癌細胞は BMP を介して間質細胞の骨芽細胞分化を促進し、一方で間質細胞は BMP を介して前立腺癌細胞の生存を促す、といった BMP を介した両者の相互作用が前立腺癌の造骨性骨転移の成立に重要である可能性が示唆された(図4)。この BMP を介した相互作用を阻害することで、前立腺癌の造骨性転移が抑制できるのではないかと、考えられた。



(図4) A. 前立腺癌細胞 LNCaP はが BMP 依存的に産生する SHH が、間質細胞 MC3T3-E1 の骨芽細胞分化を促進する。

B. 同時に、MC3T3-E1 細胞が BMP 依存的に産生する増殖因子により、前立腺癌細胞 LNCaP の増殖が促進する。

C. 想定された、BMP を介した前立腺癌細胞と間質細胞との相互作用を示す。この相互作用は、前立腺癌の骨転移形成に重要であると考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

Ehata S, Yokoyama Y, Takahashi K, Miyazono K, Bi-directional roles of bone morphogenetic proteins in cancer: another molecular Jekyll and Hyde?, Pathology International, 査読有, Vol.63, No.6, 2013, pp.287-296, doi:10.1111/pin.12067

Kawabata KC, Ehata S, Komuro A, Takeuchi K, Miyazono K, TGF-beta-induced apoptosis of B-cell lymphoma Ramos cells through reduction of MS4A1/CD20, Oncogene, 査読有, Vol.32, No.16, 2013, pp.2096-2106, doi:10.1038/onc.2012.219

Nishimori H, Ehata S, Suzuki HI, Katsuno Y, Miyazono K, Prostate cancer cells and bone stromal cells mutually interact with each other through bone morphogenetic protein-mediated signals, Journal of Biological Chemistry, 査読有, Vol.287, No.24, 2012, pp.20037-20046, doi:10.1074/jbc.M112.353094

Katsuno Y, Ehata S, Yashiro M, Yanagihara K, Hirakawa K, Miyazono K, Coordinated expression of REG4 and aldehyde dehydrogenase 1 regulating tumorigenic capacity of diffuse-type gastric carcinoma-initiating cells is inhibited by TGF-beta, Journal of Pathology, 査読有, Vol.228, No.3, 2012, pp.391-404, doi:10.1002/path.4020

Miyazono K, Ehata S, Koinuma D, Tumor-promoting functions of transforming

growth factor-beta in progression of cancer, Upsala Journal of Medical Sciences, 査読有, Vol.117, No.2, 2012, pp.143-152, doi:10.3109/03009734.2011.638729

〔学会発表〕(計5件)

Shogo Ehata, Hikaru Nishimori, Hiroshi Suzuki, Yoko Katsuno, Kohei Miyazono, Prostate cancer cells and bone stromal cells mutually interact with each other through BMP-mediated signals, 2013年2月22日、アメリカ合衆国ハワイ州ハイアットリージェンシー

Shogo Ehata, Hikaru Nishimori, Hiroshi Suzuki, Yoko Katsuno, Kohei Miyazono, Prostate cancer cells and bone stromal cells mutually interact with each other through BMP-mediated signals, 2012年9月21日、北海道札幌市ホテルロイトン札幌、第71回日本癌学会総会

Shogo Ehata, Yoko Katsuno, Yukari Hoshino, Aki Hanyu, Haruhi to Azuma, Takeshi Imamura, Kohei Miyazono, The role of TGF-beta/BMP signaling in cancer progression, 2012年9月21日、北海道札幌市ホテルロイトン札幌、第71回日本癌学会総会

江幡正悟、西森光、宮園浩平、前立腺癌細胞と骨間質細胞の相互作用における BMP の機能解析、2012年7月22日、東京都新宿区慶應義塾大学、第19回 BMP 研究会

江幡正悟、西森光、宮園浩平、前立腺癌細胞と骨間質細胞の相互作用における BMP の機能解析、2012年6月28日、福岡県北九州市西日本総合展示場、第16回日本がん分子標的治療学会学術集会

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)
なし

取得状況(計0件)
なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://beta-lab.umin.ac.jp/>

(東京大学・大学院医学系研究科・病因病理学専攻・分子病理学分野ホームページ)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江幡 正悟 (EHATA SHOGO)

東京大学・大学院医学系研究科・特任講師

研究者番号: 90506726

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし