

学 位 論 文 要 旨

氏 名

平山 貴博



論 文 題 目

**Prostate Tumor Cell growth Induced by Proliferin Secreted
from Castrated Mice Adipose Stromal Cells**

(脂肪由来間質細胞より分泌された **Proliferin** による前立腺
腫瘍細胞増殖効果についての検討)

指 導 教 授 承 認 印

石村 正嗣



Prostate Tumor Cell growth Induced by Proliferin Secreted from

Castrated Mice Adipose Stromal Cells

(脂肪由来間質細胞より分泌された **Proliferin** による前立腺腫瘍細胞増殖効果についての検討)

氏名 平山 貴博

前立腺癌の多くはアンドロゲン感受性を有し、治療としてアンドロゲン除去（去勢）療法の効果は高い。一方で多くの症例が治療経過においてアンドロゲン除去（去勢）療法に抵抗を示す去勢抵抗性前立腺癌に進展することが知られている。去勢抵抗性前立腺癌は難治性であるため、その進展メカニズムの解明は臨床的に非常に重要である。

近年、脂肪組織から単離培養された脂肪由来間質細胞が成長因子やサイトカインの分泌能を有するとして注目されている。また去勢後の前立腺周囲脂肪組織においてサイトカインの発現が増強したとする報告もあり、去勢により脂肪由来間質細胞の成長因子およびサイトカイン分泌能が変化する可能性が示されている。

本研究では、去勢後の脂肪由来間質細胞の成長因子およびサイトカイン分泌能の変化が前立腺腫瘍細胞に与える影響を検討した。

本研究には *Gliper1* Wild type (WT) マウスおよび *Gliper1* Knock out (KO) マウスを使用し、脂肪由来間質細胞はマウス前立腺周囲脂肪組織より単離培養した。前立腺周囲脂肪組織の採取は去勢手術施行後2週間で施行した。対照として非去勢群ではシャム手術施行後2週間で前立腺脂肪組織を採取した。採取した前立腺周囲脂肪組織は、collagenase type I 酵素を用いて処理しフローサイトメトリーで脂肪由来間質細胞であることを確認した。各群の脂肪由来間質細胞からRNAを抽出しマイクロアレイアッセイで遺伝子発現の変化を比較した。マイクロアレイアッセイの結果から、*Gliper1* WTおよびKOマウスの両方において、去勢群でProliferinの発現が有意に増強されていることを同定した。

Proliferinは、プロラクチン(PRL)や成長ホルモン(GH)と同一の遺伝子ファミリーに属し、元来は脳下垂体から分泌されるペプチドホルモンである。本研究では、各群の脂肪由来間質細胞から調整したライセートおよびConditioned Medium (CM)を用いたウエスタンブロットにおいてProliferinの発現を認め、脂肪由来間質細胞がProliferin分泌能を有することを明らかにした。次に、Proliferinの血管増生能を確認するため、ヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC)を用いた細胞増殖試験および血管内皮細胞チューブ形成試験を施行した。細胞増殖試験において、HUVECは各群の脂肪由来間質細胞から調整したCMで培養しMTSアッセイにより生存細胞数を測定した。血管内皮細胞チューブ形成試験では、HUVECはMatrigelに混和後CMにより培養しチューブ形成を観察した。これらの試験では、Proliferinをより多く含むCMほど、細胞増殖能およびチューブ形成能のより強い増強効果を確認した。続いて、Proliferinの腫瘍細胞における効果を観察するため、マウス前立腺腫瘍細胞 (RM-9) を用いた細胞増殖試験および細胞浸潤試験を施行した。細胞増殖試験はRM-9を用いて前述の如く施行し、細胞浸潤試験はBoyden Chamber Assayに準じて施行した。細胞浸潤試験ではRM-9はChamber上部に培養し、CMを用いたChamber下部に浸潤したRM-9細胞数を測定した。前立腺腫瘍細胞を用いた試験においても、Proliferinをより多く含むCM

ほど、より強い細胞増殖能および細胞浸潤能の増強効果を認めた。

これらの効果がProliferinによるものであるかを確認するため、抗Proliferin抗体を用いてProliferinを中和したCMを調整し、同様にHUVECを用いた細胞増殖試験および血管内皮細胞チューブ形成試験、RM-9を用いた細胞増殖試験および細胞浸潤試験を施行した。その結果、Proliferinを中和したCMでは、細胞増殖能、血管内皮細胞チューブ形成能、細胞浸潤能の全てにおいて、その効果の有意な減弱を認めた。これによりProliferinの血管内皮細胞および前立腺腫瘍細胞における効果を確認した。

本研究では、脂肪由来間質細胞が、その分泌する成長因子のひとつであるProliferinを通じて血管内皮細胞および前立腺腫瘍細胞の増殖能を高めることを示し、かつ去勢後の脂肪由来間質細胞はその効果をより増強させることを明らかにした。

今回の結果は、前立腺癌が去勢抵抗性を獲得する過程において、去勢によりProliferinに代表される成長因子およびサイトカイン分泌能を増強した脂肪由来間質細胞が直接的に前立腺腫瘍細胞を増殖させる可能性を示唆したものである。