



## Responsiveness of type 1 procollagen carboxyterminal propeptide (P1CP) to testosterone and dihydrotestosterone in a human osteosarcoma cell line

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 竹内, 里和 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1118">http://hdl.handle.net/10271/1118</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 265号	学位授与年月日	平成10年 3月26日
氏名	竹内里和		
論文題目	<p>Responsiveness of type I procollagen carboxy-terminal propeptide (P1CP) to testosterone and dihydrotestosterone in a human osteosarcoma cell line                      (ヒト骨肉腫細胞株におけるテストステロンとジヒドテストステロンに対するI型プロコラーゲンC末端プロペプチド(P1CP)産生の反応性に関する研究)</p>		

博士(医学) 竹内里和

## 論文題目

Responsiveness of type 1 procollagen carboxy-terminal propeptide (PICP) to testosterone and dihydrotestosterone in a human osteosarcoma cell line

(ヒト骨肉腫細胞株におけるテストステロンとジヒドロテストステロンに対する I 型プロコラーゲン C 末端プロペプチド (PICP) 産生の反応性に関する研究)

## 論文内容の要旨

### 〔はじめに〕

骨代謝には性ホルモンが関与していることが知られており、エストロゲンの骨代謝に対する作用は比較的明確にされている。アンドロゲンが成長を直接的、間接的に促進することは報告されているが、骨芽細胞の増殖と分化における促進作用の有無については報告が分かれており、未だ必ずしも一致した結果は得られていない。さらに、骨芽細胞にアンドロゲン受容体、芳香化酵素活性、 $5\alpha$ 還元酵素活性の発現があることが報告されて以来、テストステロンとジヒドロテストステロンのどちらがより強い作用を及ぼすかが検討されている。

本研究では、I 型コラーゲンを産生する際にプロコラーゲンから切断、分泌される I 型プロコラーゲン C 末端プロペプチド (PICP) を指標として、骨芽細胞の性質を有するヒト骨肉腫細胞株 HuO9 におけるテストステロン、ジヒドロテストステロンの骨形成作用を検討した。さらにエストロゲンによる反応と比較し、アンドロゲンの作用機序について検討した。

### 〔材料ならびに方法〕

Japanese Cancer Research Resources Bank (JCRB) より供与された骨肉腫培養細胞系である HuO9 細胞を、10% FBS 添加 RPMI1640 培地において培養し、培養プレート内に十分増殖したことを確認後、無血清培地に  $1\ \mu\text{mol/L}$  となるようにテストステロン (testosterone; T)、 $5\alpha$ ジヒドロテストステロン ( $5\alpha$ -dihydrotestosterone; DHT)、 $17\beta$  エストラジオール ( $17\beta$ -estradiol; E2) を添加して 24 時間・48 時間培養した。その培養上清中の I 型プロコラーゲン C 末端プロペプチド (PICP) 濃度をラジオイムノアッセイにて測定した。

より長時間の作用を検討するため同量の T、DHT、E2 を添加し、72 時間後の PICP 濃度を同様に測定した。

### 〔結果〕

T、DHT、E2 添加 24 時間後の PICP 濃度はそれぞれ  $637 \pm 61\text{ng/ml}$  (mean  $\pm$  SD,  $n=6$ )、 $610 \pm 57\text{ng/ml}$ 、 $615 \pm 83\text{ng/ml}$  とコントロール  $647 \pm 44\text{ng/ml}$  との間に有意差はなかった。48 時間後の PICP 濃度はそれぞれ  $1268 \pm 109\text{ng/ml}$ 、 $1128 \pm 156\text{ng/ml}$ 、 $1393 \pm 123\text{ng/ml}$  とコントロール  $1688 \pm 99\text{ng/ml}$  に比較し有意に低下した ( $P < 0.01$ )。

72 時間後の PICP 濃度は、コントロール (100%) に比べ T (76.6%) と E2 (81.3%) で有意に低下した ( $P < 0.01$ )。DHT はコントロールの 95.0% と有意差はなかったが、T と E2 に比べて有意に高かった ( $P < 0.05$ )。T と E2 の値に有意差はなかった。

## 〔考察〕

P1CP濃度は、 $1 \mu\text{mol/L}$ の濃度下においてEと同様にT・DHTで減少した。このことからアンドロゲンの投与でI型コラーゲンの産生が減少すると考えられ、骨芽細胞の骨形成を抑制する可能性があると思われる。72時間後では抑制作用はDHTよりTに強く認められた。アンドロゲン不応症の男性での骨密度減少、 $5\alpha$ 還元酵素阻害薬投与での骨密度の維持などの報告より、骨代謝におけるアンドロゲンのエストロゲンへの芳香化の重要性が推測されている。今回の結果も同様のTの重要性を示していると考えられ、この推測に矛盾しないものとする。

## 〔結論〕

ヒト骨肉腫細胞株HuO9において、TおよびDHTの投与でP1CPを指標としたI型コラーゲンの産生が減少し、その作用はDHTよりTに強く認められ、アンドロゲンの芳香化が骨代謝に重要であるという仮説と矛盾しないものであった。

## 論文審査の結果の要旨

骨代謝には性ホルモンが関与していることが知られており、エストロゲンの骨代謝に対する作用は比較的明確にされてきつつある。アンドロゲンについては、成長を直接的、間接的に促進することは報告されているが、骨芽細胞の増殖と分化における促進作用の有無については、未だ一致した結果は得られていない。さらに、骨芽細胞にアンドロゲン受容体、芳香化酵素活性、 $5\alpha$ 還元酵素活性の発現があることが報告されて以来、テストステロンとジヒドロテストステロンのどちらがより強い作用を及ぼすかが検討されている。

申請者は、I型コラーゲンを産生する際にプロコラーゲンから切断、分泌されるI型プロコラーゲンC末端プロペプチドを指標として、骨芽細胞の性質を有するヒト骨肉腫細胞株HuO9におけるテストステロン、ジヒドロテストステロンの骨形成作用を検討した。さらにエストロゲンによる反応とも比較検討した。

培養プレート内に十分増殖したHuO9細胞を、 $1 \mu\text{mol/L}$ となるようにテストステロン(T)、 $5\alpha$ ジヒドロテストステロン(DHT)、 $17\beta$ エストラジオール(E2)を添加した無血清培地で24時間・48時間と72時間培養した。その培養上清中のI型プロコラーゲンC末端プロペプチド(P1CP)濃度をラジオイムノアッセイにて測定した。

その結果は以下のものであった。

- ①T、DHT、E2添加24時間後のP1CP濃度はコントロールとの間に有意差はなかった。
- ②48時間後のP1CP濃度はT、DHT、E2の全てでコントロールに比較し有意に低下した。
- ③72時間後のP1CP濃度はコントロールと比べてTとE2で有意に低下した。DHTはコントロールとの間に有意差はなかったが、TとE2に比べて有意に高かった。TとE2の値に有意差はなかった。

以上の結果からヒト骨肉腫細胞株HuO9において、TはE2と同等にP1CPを指標としたI型コラーゲンの産生を減少させ、骨芽細胞の骨形成を抑制する可能性があると考えられた。アンドロゲン不応症の男性例などの報告より推測されたアンドロゲンの芳香化が骨代謝に関与しているという仮説と矛盾しないものであった。なお、48時間後の検討ではDHTにも抑制効果のあることが示唆されており、この点はさらに追求すべき問題と考えられた。

本研究は、アンドロゲンの骨代謝特に骨芽細胞に対する作用の一部を明確にしたものであり、骨代謝

性疾患およびその基礎を研究する上で本研究の意義は大きいものと高く評価された。申請者の発表に対し、次のような質疑が行われた。

- 1) コラーゲンの合成について
- 2) PICPを測定した理由は
- 3) DHTを添加した理由は
- 4) アンドロゲンの添加によりtype I collagen産生が抑制された理由は
- 5) 無血清培地による前培養の時間について
- 6) 細胞が活着しているかどうか調べる必要はないか
- 7) オステオカルシンの作用は
- 8) テストステロン、ジヒドロテストステロンは共にアンドロゲンレセプターを介するのか
- 9) アロマターゼについて
- 10)  $5\alpha$ -レダクターゼ、アロマターゼの細胞内局在は

これらの質問に対して申請者は適切な解答をし、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 井上 哲郎

副査 教授 藤田 公生 副査 助教授 小田 敏明