

## 論文の内容の要旨

氏名：金子博寿

博士の専攻分野の名称：博士（歯学）

論文題名：Fibroblast Growth Factor 2 and Forskolin Regulate Mineralization-associated Genes in Osteoblast-like Cells and Breast Cancer Cells

（塩基性線維芽細胞成長因子とフォルスコリンによる骨芽細胞様細胞および乳ガン細胞における石灰化関連遺伝子の調節）

骨シアロタンパク質（BSP）は、石灰化結合組織特異的に発現する非コラーゲン性タンパク質であるが、近年ガン細胞の骨転移に関与することが報告された。塩基性線維芽細胞成長因子（FGF2）とサイクリックAMP（cAMP）は、骨芽細胞の分化および骨の石灰化を調節する役割を有しており、過去の研究で、FGF2とフォルスコリン（FSK）は、単独でROS17/2.8細胞における骨シアロタンパク質（BSP）の転写を増加させるが、FGF2とFSKで同時刺激（FGF2/FSK）するとBSPの転写は相乗的に増加することを報告した。しかしながら、FGF2、FSKおよびFGF2/FSK刺激によるBSP以外の遺伝子発現に関する検索は行われていない。そこで、本研究では、ラットおよびヒト由来の2種類の骨芽細胞様細胞に対するFGF2、FSKまたはFGF2/FSK刺激後の石灰化関連遺伝子の発現変化をDNAマイクロアレイにて検索した。また、MCF7ヒト乳ガン細胞におけるBSPの発現が、FSK刺激でどの様に変化するかを、RT-PCR、ルシフェラーゼアッセイおよびゲルシフトアッセイで検索を行った。

ラット骨芽細胞様細胞ROS17/2.8細胞において、FGF2およびFSKはc-FOS遺伝子の発現を7.2および10.7倍増加させたが、FGF/FSK刺激では、c-FOS遺伝子の発現は変化しなかった。FGF2はdentin matrix protein 1（DMP1）遺伝子の発現を129.8倍増加させた。一方FGF/FSKは、amphiregulin（AREG）遺伝子発現を73倍増加させた。

ヒト骨芽細胞様細胞Saos2細胞において、FGF2はosteopontin（SPP1）遺伝子の発現を16.7倍に、interleukin-8（IL8）を6.4倍、IL11遺伝子発現を4.8倍増加させた。FSKは、IL6遺伝子発現を2.6倍、IL11を4.0倍、chemokine ligand 13（CXCL13）を2.8倍、Bone morphogenetic protein 2（BMP2）遺伝子発現を2.5倍増加させた。

ヒト乳ガン由来MCF7細胞において、FSK（1  $\mu$ M）は、BSP、runt homeodomain protein 2（Runx2）およびOsterixのmRNA発現を刺激12時間後に増加させた。種々の長さのラットBSP遺伝子プロモーターをルシフェラーゼプラスミドに挿入し、ルシフェラーゼアッセイを行った結果、cAMP応答配列（CRE）、Runx2応答配列およびFGF2応答配列（FRE）がFSKによる転写調節のターゲットであると考えられた。ゲルシフトアッセイの結果、FSKはCREとFREに結合する核内タンパク質の量を増加させた。

以上の結果から、ヒト乳ガン細胞でのFSKによるBSPの転写の調節は、BSP遺伝子プロモーター中のCREおよびFRE応答配列を介することが明らかになった。FGF2とFSKは、骨形成と石灰化を調節することから、将来の歯周治療に応用できる可能性があると考えられた。