

|              |  |
|--------------|--|
| Title        | Growth inhibitory effect and its mechanism in gastrointestinal, biliary, and pancreatic adenocarcinoma cells through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ /retinoid X receptor $\alpha$ pathway |
| Author(s)    | 辻江, 正徳   |
| Citation     |  |
| Issue Date   |  |
| Text Version | none   |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/45320">http://hdl.handle.net/11094/45320</a>  |
| DOI          |  |
| rights       |  |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

|            |  |
|------------|--|
| 氏名         | 辻 江 正 徳  |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学)  |
| 学位記番号      | 第 1 8 5 2 5 号  |
| 学位授与年月日    | 平成 16 年 3 月 25 日   |
| 学位授与の要件    | 学位規則第 4 条第 1 項該当<br>医学系研究科臓器制御医学専攻   |
| 学位論文名      | Growth inhibitory effect and its mechanism in gastrointestinal, biliary, and pancreatic adenocarcinoma cells through activation of the peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ /retinoid X receptor $\alpha$ pathway<br>(消化器癌細胞株における PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ 活性化の経路を介した増殖抑制とそのメカニズム) |
| 論文審査委員     | (主査)<br>教授 門田 守人<br>(副査)<br>教授 野口眞三郎 教授 下村伊一郎  |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔目的〕

核内受容体の一つである Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) は、脂肪組織において脂肪細胞の分化や糖の取り込みに重要な役割を果たす転写因子で、Retinoid X receptor  $\alpha$  (RXR  $\alpha$ ) と二量体を形成することにより、目的遺伝子の発現調節を行っている。近年、血糖降下薬として知られる Thiazolidinedione 系薬剤 (TZD) が、PPAR  $\gamma$  のリガンドであることが見いだされ、癌細胞の増殖を抑制することが報告された。PPAR  $\gamma$  の発現は種々の癌細胞で認められるものの、消化器癌における PPAR  $\gamma$ /RXR  $\alpha$  を介した抗腫瘍効果に関しては不明な点が多い。消化器癌細胞株における PPAR  $\gamma$ /RXR  $\alpha$  を介した増殖抑制とそのメカニズムを検討し、PPAR  $\gamma$ /RXR  $\alpha$  が消化器癌治療の分子標的となりうるかどうかを検討した。

#### 〔方法ならびに成績〕

##### (1) PPAR $\gamma$ および RXR $\alpha$ の発現および転写活性

12 種類の消化器癌細胞株 (MKN45, HCT116, HT-29, HuCCT1, AsPC1, BxPC3, PSN1, PCI6, Panc1, KMP-4, KMP-7) を用いて mRNA および蛋白の発現を RT-PCR 法および Western blot 法にて検討した。全ての細胞株において PPAR  $\gamma$  と RXR  $\alpha$  の mRNA および蛋白の発現が認められた。Luciferase assay を用いて転写活性を見たところ、BxPC3 を除く 11 株において TZD の一つである Troglitazone により PPAR  $\gamma$  の転写活性が亢進した。

##### (2) PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ の転写活性の程度と増殖抑制との関係

PPAR  $\gamma$  活性化能の異なる 6 種類の TZD (Troglitazone, RS-1303, RS-1330, RS-1387, RS-1455, RS-1456) を用い、MTT assay にて増殖抑制効果を検討した。PPAR  $\gamma$  の転写活性が亢進した細胞株では、PPAR  $\gamma$  の転写活性と増殖抑制効果との間に強い相関関係を認められた ( $r > 0.8$ ,  $P < 0.0001$ )。一方、PPAR  $\gamma$  の転写活性が亢進しなかった BxPC3 では転写活性化能の強い TZD でも増殖抑制効果は弱かった。また、Troglitazone に RXR  $\alpha$  の特異的リガ

ンドである 9-cis retinoic acid (9-cis RA) を併用したところ、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  の転写活性および増殖抑制効果は共に増強され、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  の転写活性と細胞増殖抑制効果の間に強い相関関係が認められた ( $r>0.7$ ,  $P<0.05$ )。

### (3) PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$ を介した増殖抑制のメカニズム

TZD 投与により細胞周期の G1 期での停止 (G1 arrest) が引き起こされ、蛋白レベル (Western blot 法) で CyclinD1 の発現低下を認めた。また分化のマーカーとして知られる CEA の mRNA レベル (RT-PCR 法) での発現増加が引き起こされた。G1 arrest や CEA 発現レベルは PPAR $\gamma$  活性化の程度と密接に関連しており、9-cis RA の投与により増強された。さらに、一部の細胞株では、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  活性化によるアポトーシスの誘導が TUNEL 法により確認され、蛋白レベル (Western blot 法) で Bax の発現増強および Bcl-2 の発現低下を認めた。

### 〔総括〕

6 種類の TZD および 9-cis RA を用いた検討により、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  の活性化を介した経路が消化器癌細胞の増殖抑制効果をもつことが示唆された。PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  を介した細胞増殖の抑制には、細胞周期の停止や、分化やアポトーシスの誘導が関与していると考えられ、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  がヒト消化器癌治療における分子標的となりうると考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

核内受容体の一つである Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) は、脂肪細胞の分化などの重要な役割を果たす転写因子で、Retinoid X receptor  $\alpha$  (RXR $\alpha$ ) と二量体を形成することにより、目的遺伝子の発現調節を行っている。種々の癌細胞で PPAR $\gamma$  の発現が認められるものの、その抗腫瘍効果についての詳細は不明である。本研究では、消化器癌細胞株における PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  を介した増殖抑制とそのメカニズムを検討した。調べた 12 種類の消化器癌細胞株 (MKN45、HCT116、HT-29、HuCC1、AsPC1、BxPC3、PSN1、PCI6、Panc1、KMP-4、KMP-7) 全てにおいて PPAR $\gamma$  と RXR $\alpha$  の mRNA および蛋白の発現が認められた。BxPC3 を除く 11 株において TZD の一つである Troglitazone 投与により PPAR $\gamma$  の転写活性が亢進した。PPAR $\gamma$  活性化能の異なる 6 種類の TZD (Troglitazone、RS-1303、RS-1330、RS-1387、RS-1455、RS-1456) を用いた検討では、PPAR $\gamma$  の転写活性と増殖抑制効果との間に強い相関関係が認められ ( $r>0.8$ ,  $P<0.0001$ )、PPAR $\gamma$  の転写活性が亢進しなかった BxPC3 では転写活性化能の強い TZD でも増殖抑制効果は弱かった。また、Troglitazone に RXR $\alpha$  の特異的リガンドである 9-cis retinoic acid (9-cis RA) を併用したところ、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  の転写活性および増殖抑制効果は共に増強され、この 2 つの因子の間に強い相関関係が認められた ( $r=0.796$ ,  $P<0.0001$ )。さらに、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  の活性化の程度と、細胞周期停止、細胞分化やアポトーシスの程度は密接に関係していた。本研究は、消化器癌細胞における PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  を介した増殖抑制効果を明らかにし、PPAR $\gamma$ /RXR $\alpha$  が消化器癌治療の新たな分子標的になる可能性を示したもので、学位に値すると考える。