



Title	PPAR γ アンタゴニストは扁平上皮癌細胞のアノイキスを誘導する
Author(s)	増田, 智丈
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46414
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	増田 智 文
博士の専攻分野の名称	博士 (歯学)
学位記番号	第 20208 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学位論文名	PPAR γ アンタゴニストは扁平上皮癌細胞のアノキスを誘導する
論文審査委員	(主査) 教授 古郷 幹彦 (副査) 教授 上崎 善規 助教授 西村 理行 講師 中澤 光博

論文内容の要旨

[目的]

Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) はステロイドレセプタースーパーファミリーに属する核内移行型受容体 (核内レセプター) であり、転写調節因子として作用することにより、様々な生理作用を発揮していると考えられている。現在までに α 、 β/δ 、 γ の 3 種類が発見されている。PPAR γ の主な作用としてインスリン感受性、脂肪細胞分化、脂肪酸代謝などが報告されてきた。さらに近年、炎症や免疫応答、動脈硬化、そして腫瘍発生・増殖への関与が注目されている。

PPAR γ と癌に関して、これまでに大腸癌や甲状腺癌、膵臓癌、肝細胞癌、食道癌、などにおいて PPAR γ の高レベルでの発現、またその増殖への関与が報告されている。しかし、PPAR γ 経路を活性化することにより抗腫瘍効果を示すとする報告、反対に阻害することにより抗腫瘍効果を示すとする報告があり、その見解は一致しておらず、その実は混沌としている。今回、我々は口腔扁平上皮癌における PPAR γ の役割について検討した。

[材料と方法]

口腔扁平上皮癌組織、および培養細胞 (SCCKN、SCCTF、SAS、CA9-22) での PPAR γ 蛋白質の発現を検討した。大阪大学歯学部付属病院にて手術切除を行った舌扁平上皮癌症例から 20 例をランダムに選出して免疫組織学的手法により、また 4 種の口腔扁平上皮癌培養細胞での発現をウエスタンブロット法にて検討した。

培養細胞に対し、PPAR γ に特異的なアゴニスト (Pioglitazone、Rosiglitazone) またはアンタゴニスト (T0070907、GW9662、BADGE) 処置を行い、その細胞増殖への影響を MTT assay にて検討した。またアンタゴニスト処置によってもたらされた効果が特異的なものであるかどうかを検討するため、siRNA を作製・導入し、同様の検討を加えた。細胞死はトリパンブルー細胞染色を用い、アポトーシスは AnnexinV-PI による二重染色後フローサイトメトリー法、および Hoechst33342 による核染色により検討した。細胞接着に関する検討は、アゴニストおよびアンタゴニストを前処置した細胞をフィブロネクチンコートされたディッシュへ播種し、継時的に接着細胞数をカウントした。細胞骨格形成の検討は、アンタゴニスト処置後の接着細胞に対し抗 F-Actin 抗体にて培養細胞骨格を染色し、共焦点レーザー顕微鏡にてコントロール群との比較を行った。細胞浸潤能に対する検討は Invasion chamber を用い、基底膜様組成のメンブレンを通過する細胞を比較した。

[結果]

1. 口腔扁平上皮癌組織、培養細胞ともに PPAR γ 蛋白質の強い発現を認めた。特に、健常組織と比べ癌増殖の強い部位で著明に発現していた。
2. PPAR γ アゴニスト処置群では細胞増殖への影響は認めなかった。一方、アンタゴニスト処置群では処置後 24～48 時間で 30～60%の増殖抑制を認めた。また PPAR γ -siRNA を導入した群ではコントロールに比べ細胞増殖を 50%抑制した。
3. PPAR γ アンタゴニスト処置群では、コントロール群に比べてアポトーシスを示す細胞の割合が著明に増加した。
4. アンタゴニスト処置群はフィブロネクチンコートディッシュへの接着がコントロールに比べ著明に抑制された。
5. アンタゴニスト処置によりインテグリンシグナルにおける FAK (Focal adhesion kinase) の 925 番チロシン残基のリン酸化が抑制された。また、その下流に存在する MAPK (Mitogen activated protein kinase) 系の細胞内情報伝達分子のリン酸化も抑制された。
6. インテグリンシグナルの阻害により細胞骨格因子の活性化は抑制され、細胞骨格 (アクチンストレスファイバー) の形成も抑制された。
7. PPAR γ アンタゴニスト処置群ではコントロール群に比べて、細胞浸潤能は著明に抑制され、そのメカニズムの 1 つとして CD151 の発現抑制が考えられた。

[考察]

PPAR γ 経路の阻害により培養細胞において引き起こされたアポトーシスおよび細胞接着阻害は「アノイクシス: Anoikis」と呼ばれる現象に相当すると考えられた。アノイクシスとは 1994 年に「上皮細胞と細胞外基質との相互関係の消失によって生じるアポトーシス」と定義され、癌細胞はアノイクシス耐性のおかげで、全身を循環している間も生存でき、離れた臓器での二次腫瘍形成が促進されると考えられている。今回、我々は PPAR γ の阻害により口腔扁平上皮癌細胞においてアノイクシスが誘導されることを証明した。これらのことにより、PPAR γ の阻害によって癌の浸潤、転移を抑制する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は口腔癌の新たな治療法確立を目的とし、口腔扁平上皮癌の組織や培養細胞を用い、核内レセプターである PPAR γ の発現、また細胞の増殖・接着能・浸潤能に対する作用について検討したものである。

その結果、口腔扁平上皮癌組織の癌部における PPAR γ の高レベル発現を確認し、PPAR γ 経路の不活性化により細胞増殖が抑制され、接着阻害により誘導されるアポトーシス、すなわちアノイクシスが誘導されることを明らかにした。

本研究は、癌における PPAR γ の役割について新たな知見を提示し、今後の癌治療に関する研究に対し有用な基礎的情報を提供するものであり、博士 (歯学) の学位申請に値するものである。