

Title	核内受容体PPAR $\alpha$ の細胞増殖制御機構に関する研究
Author(s)	山崎, 大典
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46524">https://hdl.handle.net/11094/46524</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	山崎大 典
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 20261 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 薬学研究科生命情報環境科学専攻
学位論文名	核内受容体 PPAR $\alpha$ の細胞増殖制御機構に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 土井 健史 (副査) 教授 山元 弘 教授 中川 晋作 教授 山口 明人

#### 論文内容の要旨

ヒトの臓器や組織は多彩であり、それらの機能は個別の細胞により維持されている。これらの細胞は、必要に応じて増殖あるいは死滅する。細胞の増殖は細胞周期により制御され、また、プログラムされた細胞死はアポトーシスにより誘導される。このような機構により、通常は細胞の機能が正常に維持されている。しかしながら、細胞周期を制御するサイクリン-CDK 複合体やチェックポイント機構の破綻による細胞周期の異常や、アポトーシス制御機構の破綻は、細胞の過増殖に繋がる。このような細胞の異常な増殖は、とりわけ腫瘍の病態に密接に関与することが広く知られている。

現在臨床で用いられている多くの抗腫瘍薬は、癌細胞の増殖を強く阻害するが、重篤な副作用を有する。そこで、このような問題点を克服するために、最近、癌細胞に発現する分子に着目した分子標的治療薬の開発が進められている。これらの中には、PPAR をはじめとした核内受容体も含まれている。PPAR はリガンド依存的に標的遺伝子の転写を調節し、これまでに 3 種のサブタイプ ( $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ ) が同定されている。これまでの報告から、PPAR $\gamma$  は癌細胞の増殖抑制やアポトーシス誘導、転移阻害などの抗腫瘍効果を有しており、臨床的にも注目されている。また、PPAR $\delta$  は大腸癌や乳癌の悪化に関与することが報告されている。これに対して、PPAR $\alpha$  の癌に対する作用は統一した見解が得られていない。すなわち、PPAR $\alpha$  アゴニストの細胞増殖に対する影響については、増殖誘導と抑制の両方が報告されている。そこで本研究では癌における PPAR $\alpha$  の機能解析を目的として、まず PPAR $\alpha$  アゴニストのヒト癌細胞株の増殖に与える影響を精査した。

まず、ヒト由来の 3 種の肝癌細胞株と 4 種の乳癌細胞株を用いて、PPAR $\alpha$  を含む種々の核内受容体アゴニストの増殖に対する影響を精査した。その結果、高脂血症治療薬として用いられている PPAR $\alpha$  アゴニストのフェノフィブラートが、Huh-7 (肝癌細胞) と SK-BR-3 (乳癌細胞) の細胞増殖を顕著に抑制することを見いだした。続いて、細胞周期解析を行った結果、Huh-7 では S 期細胞の低下が、SK-BR-3 では sub-G<sub>1</sub> 細胞の増加が認められた。さらに、SK-BR-3 を用いてアポトーシス誘導経路について詳細な検討を行った結果、フェノフィブラートがカスパーゼ依存的なアポトーシスを介した細胞死を誘導することが判明した。また、フェノフィブラート処理した Huh-7 および SK-BR-3 における遺伝子発現解析を行った結果、S 期移行に必要な遺伝子群の発現を制御する E2F1 の発現が顕著に減少した。以上の結果から、フェノフィブラートはアポトーシスの誘導や、細胞周期における S 期への移行を阻害することにより、細胞増殖を抑制することが明らかになった。またその効果は、他の核内受容体アゴニストを併用する

ことにより増強した。

次に、PPAR $\alpha$ アゴニストによる癌細胞の増殖抑制効果における PPAR $\alpha$ の発現量が及ぼす影響を精査すべく、PPAR $\alpha$ 安定発現細胞株を用いた検討を行った。まず、ヒト乳癌由来の PPAR $\alpha$ 安定発現細胞株の樹立を試みた。その結果、良好なリガンド応答性を示す細胞株の樹立に成功した。そこで、得られた細胞株を用いて種々の PPAR $\alpha$ アゴニストの効果を検討した。その結果、PPAR $\alpha$ の発現を誘導することにより、PPAR $\alpha$ アゴニストの増殖抑制効果が顕著に増大することが判明した。引き続き、ヒト乳癌および肝癌由来の PPAR $\alpha$ 安定発現細胞株を用いて、網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、細胞周期において S 期移行に関与するサイクリンや CDK 遺伝子の発現が、アゴニスト依存的に減少することが判明した。さらに、癌の病態や癌抑制に密接に関与する複数の遺伝子発現が、アゴニスト依存的な誘導を受けていた。これらの遺伝子群は、これまでに PPAR との関連が報告されていないことから、新規の PPAR 標的遺伝子の候補としてさらに詳細な遺伝子発現解析を行った。その結果、リガンド依存的に経時的な発現誘導ならびに、リガンド濃度依存的な発現量の増大が認められ、PPAR の標的遺伝子であることが強く示唆された。以上の結果から、PPAR $\alpha$ 安定発現細胞株における遺伝子発現の変動が、PPAR $\alpha$ アゴニストの細胞増殖抑制作用の分子機序を説明する上で重要であると考えた。

以上、本研究ではヒト由来培養細胞株を用いて、PPAR $\alpha$ アゴニストによる細胞増殖抑制作用を明らかにした。このような細胞増殖の抑制機構は、SK-BR-3 (乳癌細胞) ではアポトーシスの誘導が、また、Huh-7 (肝癌細胞) では細胞周期の S 期への移行阻害が要因であることが判明した。さらに、遺伝子発現解析により、サイクリンや CDK 遺伝子の発現低下や、癌抑制作用を有する遺伝子の発現誘導が認められた。PPAR $\alpha$ アゴニストは、このような遺伝子の発現を調節することにより細胞増殖を抑制することが強く示唆された。

これまでに、PPAR $\alpha$ アゴニストは齧歯類の肝癌を誘発することが広く知られている。それに対して、これまでにフィブラート系高脂血症治療薬の服用者における有意な肝癌発症の増加は報告されていない。このことは、PPAR $\alpha$ アゴニストの種差の事例として認識され、ヒト由来の癌細胞を用いた種々の検討がなされている。しかしながら、PPAR $\alpha$ アゴニストの細胞増殖に対する影響については、統一した知見が得られていない。ヒト癌細胞の増殖抑制効果を示す報告は複数存在するが、本研究はその詳細な分子機構の解析結果を示す初めての報告である。また、本研究で用いた細胞株の中には、PPAR $\alpha$ アゴニストに応答しない細胞株が複数存在した。このように、PPAR $\alpha$ アゴニストの薬理作用が細胞株ごとに異なることが、統一した見解が得られていない要因であると考えられる。今後、このような細胞株特異性の解析が課題である。

フェノフィブラートをはじめとするフィブラート系薬剤は、すでに臨床で広く用いられている安全性の高い薬物である。本研究により、フェノフィブラートの PPAR $\alpha$ を介するある種の癌細胞の増殖抑制とその分子機構を明らかとした。したがって、今後のさらなる解析により、PPAR $\alpha$ の癌病態における機能の解明のみならず、新たな分子標的治療薬の創製に繋がるものと強く期待される。

## 論文審査の結果の要旨

ペルオキシソーム増殖剤応答性受容体 (peroxisome proliferator-activated receptor; PPAR) は、ペルオキシソーム増殖誘導剤であるクロフィブラートをリガンドとする核内受容体の一種として見出され、現在までに  $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$  の 3 種類のサブタイプが存在する。これまでの報告から、PPAR $\gamma$  は癌細胞の増殖抑制やアポトーシス誘導、転移阻害などの抗腫瘍効果に関与しており、臨床的にも注目されている。また、PPAR $\delta$  は大腸癌や乳癌の悪化に関与することが報告されている。これに対して、PPAR $\alpha$ の癌に対する作用については統一した見解が得られていない。

このような背景の下、山崎君は癌における PPAR $\alpha$ の機能解析を目的として研究を展開した。

まず、PPAR $\alpha$ アゴニストのヒト癌細胞株の増殖に与える影響を検討し、フェノフィブラートが、Huh-7 (肝癌細胞) と SK-BR-3 (乳癌細胞) の細胞増殖を顕著に抑制することを見いだした。さらに細胞周期解析より、Huh-7 では S 期細胞の低下が、SK-BR-3 では sub-G<sub>1</sub> 細胞の増加が認められた。以上の結果から、フェノフィブラートはアポトーシスの誘導や、細胞周期における S 期への移行を阻害することにより、細胞増殖を抑制することが明らかになっ

た。

次に、ヒト乳癌由来の PPAR $\alpha$  安定発現細胞株の樹立を行い、この細胞株を用いて種々の PPAR $\alpha$  アゴニストの効果を検討した。その結果、PPAR $\alpha$  の発現を誘導することにより、PPAR $\alpha$  アゴニストの増殖抑制効果が顕著に増大することが判明した。さらに網羅的な遺伝子発現解析を行った結果、細胞周期において S 期移行に関与するサイクリンや CDK 遺伝子の発現が、アゴニスト依存的に減少することが判明した。さらに、癌の病態や癌抑制に密接に関与する複数の遺伝子発現がアゴニスト依存的な誘導を受けていた。

以上の研究成果は、核内受容体 PPAR の機能解明に大きく貢献することが考えられることより、博士 (薬学) の学位論文として価値あるものと認める。