

Title	Expression of PPAR δ in multistage carcinogenesis of the colorectum : implications of malignant cancer morphology
Author(s)	高山, 治
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47480
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	たか 高	やま 山	おさむ 治
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)		
学位記番号	第 20972 号		
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻		
学位論文名	Expression of PPAR δ in multistage carcinogenesis of the colorectum : implications of malignant cancer morphology (大腸癌多段階発癌における PPAR δ の発現検討 ; 特に悪性度の高い癌形態との関連について。)		
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人 (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎		

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

転写因子 PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) family は、脂質代謝、炎症、糖尿病、癌などにおける役割が指摘されている。PPAR family の中で、PPAR δ は大腸癌の発生・進展に重要な β -catenin/T-cell factor の下流標的として知られているが、PPAR δ の大腸発癌への影響を調べた動物実験の報告結果は、一致していない。本研究では大腸癌の多段階発癌過程での PPAR δ の発現を調べ、ヒト大腸癌組織における PPAR δ の役割を明らかにすることを目的とした。

[対象と方法]

(対象) ラット小腸細胞 IEC18、外科的・内視鏡的に切除された大腸組織 (正常粘膜 32、腺腫 23、大腸癌 32) を対象とした。

(方法)

- (1) 抗ヒト PPAR δ ポリクローナル抗体の特異性を調べるために pCMX-mPPAR δ ベクターを導入した IEC18 細胞株を樹立した。この細胞株を用いて、抗ヒト PPAR δ ポリクローナル抗体を用いた western blot と免疫細胞染色を行った。
- (2) 大腸組織に対して、抗ヒト PPAR δ ポリクローナル抗体を用いた ABC 法による免疫組織染色を行った。
- (3) Western blot 法、RT-PCR 法により大腸癌組織中の PPAR δ 蛋白および mRNA 発現を検討した。
- (4) 大腸癌組織に対して抗 Ki-67 ポリクローナル抗体、抗 β -カテニンモノクローナル抗体を用いた免疫組織染色を行い、PPAR δ 発現細胞の分布との関係を調べた。
- (5) PPAR δ の染色性と、組織中の癌細胞の形態的特徴について比較検討した。PPAR δ の染色強度はコンピューター画像解析ソフト MAC SCOPE により測定した。細胞形態の検討項目は癌細胞の形態的悪性度の指標として、核の大きさ (長径×短径)、核の形状 (短径/長径 : 完全な円の時に 1.0 となる)、核小体の明瞭化について検討した。

[成績]

- (1) 抗ヒト PPAR δ ポリクローナル抗体を用いた western blot 法で PPAR δ 遺伝子を導入した IEC18 細胞株では、コントロール細胞株に比べて豊富な PPAR δ 蛋白が検出された。また免疫細胞染色ではコントロール細胞株に比べて核に強い PPAR δ 蛋白の発現を認められ、抗体の特異性が確認された。
- (2) PPAR δ 蛋白の免疫組織染色
正常粘膜では PPAR δ は、表層部に弱い発現を示した。腫瘍組織では PPAR δ は主として細胞質に蓄積しており、腺腫の 35%に弱～中等度の発現を、癌組織の 90%以上に中等度～強度の発現を認めた。
- (3) 免疫染色の結果、癌組織において PPAR δ 高発現群、低発現群となった組織サンプルを用いて、western blot 法、RT-PCR 法により PPAR δ 蛋白、RNA 量を測定した。その結果は、免疫染色で細胞質に蓄積した PPAR δ の程度といずれもよく相関していた。
- (4) Ki-67 染色と PPAR δ 染色の結果、一部の症例で両者の発現細胞の分布が一致していたが、全体としては相関がみられなかった。一方、 β -カテニンの細胞質蓄積と PPAR δ 細胞質蓄積は全癌組織を通じてよく一致していた。
- (5) 大多数の癌症例で PPAR δ 陽性細胞は、癌細胞の核の大きさ、核の円形化、核小体の明瞭化などの悪性度の高い癌細胞形態的特徴とよく相関していた。このような、PPAR δ と細胞形態との関係は、PPAR δ 陰性細胞と陽性細胞が同一癌組織に混在する場合でもよく保たれていた。

[総括]

PPAR δ は cyclin D1 や Ki-67 についての発現報告と同様に、ヒト大腸の発癌過程で正常粘膜～腺腫～癌と段階的に発現亢進を示した。さらに、進行大腸癌の細胞形態に注目した検討では、悪性度の高い形態的特徴をもつ癌細胞と PPAR δ 発現細胞はよく一致していた。これらの所見は、PPAR δ がヒト大腸癌の癌化や癌の進展に積極的に関与する可能性を示唆するものである。

論文審査の結果の要旨

PPAR δ (peroxisome proliferator-activated receptor δ) は、大腸癌の発生・進展に重要な β -catenin/T-cell factor の下流標的であるが、大腸癌の発生・進展に関与するかの報告結果は未だ一致していない。本研究は、大腸癌の多段階発癌過程での PPAR δ の発現を調べ、ヒト大腸癌組織における PPAR δ の役割を明らかにすることを目的としている。免疫染色での PPAR δ の発現は、正常粘膜、腺腫、癌組織へと段階的に増加しており、また PPAR δ の細胞質蓄積は、 β -catenin の細胞質蓄積と相関していた。大腸癌細胞には、形態的に悪性度の異なる二つの細胞集団があるが、PPAR δ は、巨大で球状の核、核小体の明瞭化といった悪性度の高い形態を持つ細胞に選択的に高発現していた。このような発現様式は大多数の大腸癌組織に認められ、さらに、同一腺管の中でも癌細胞の形態に応じて PPAR δ の発現様式はよく保たれていた。

本研究では、大腸発癌過程において PPAR δ の発現は癌化に伴い増加し、殊に悪性度の高い細胞形態との間に密接な関係を認めた。これらの所見は、PPAR δ がヒト大腸癌の進展に関与する可能性を示唆するものであり、学位の授与に値すると考えられる。