

Title	核内受容体制御系を用いた癌細胞の増殖・浸潤の抑制とそのメカニズムの解明について
Author(s)	石田, 浩之
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/47590
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	いし だ ひろ ゆき 石 田 浩 之
博士の専攻分野の名称	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	第 2 1 0 3 8 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 歯学研究科統合機能口腔科学専攻
学 位 論 文 名	核内受容体制御系を用いた癌細胞の増殖・浸潤の抑制とそのメカニズム の解明について
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 古郷 幹彦 (副査) 教 授 上崎 善規 講 師 墨 哲郎 講 師 斉藤 正寛

論 文 内 容 の 要 旨

(緒言)

リガンド依存性転写調節因子である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受容体には Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) や Estrogen receptors (ERs) などがあり、各組織において生理学的に重要な役割を担っている。PPARs には α 、 β/δ 、 γ の 3 つのアイソフォームがあり、ERs には α 、 β のアイソフォームがある。PPAR γ は脂肪細胞の分化やインスリン感受性などへの関与が、ERs には女性の生殖器の発達や骨形成、免疫系の調節などへの関与が示唆されている。その一方で、近年 PPAR γ や ERs が癌の増殖に重要な役割を果たしていることが報告されている。今回、これらの核内受容体を阻害することにより、癌細胞に対して増殖・浸潤抑制をもたらすこと、及びそのメカニズムについて解析を行った。

(結果と考察)

ERs について、ヒト口腔扁平上皮癌の病理組織切片の免疫組織化学染色と培養細胞のウェスタンブロットによる解析から、ER α より ER β の強いタンパク発現を認めた。

そこで、ヒト口腔扁平上皮癌細胞の一つである SCCKN に ER の antagonist である tamoxifen を作用させ、MTT 法にて細胞死の誘導を検討すると、細胞死が濃度依存的に、かつ時間依存的に誘導された。Tamoxifen を処置した細胞の形態は球形に変化し、細胞間の接着阻害が認められた。我々は PPAR γ が種々の癌組織に発現しており、PPAR γ 阻害により anoikis と呼ばれる細胞接着阻害による apoptosis が生じ、その結果、癌細胞の増殖や浸潤能が抑制されることを報告しているが、ER を阻害したときの細胞の形態変化は PPAR γ を阻害したときに認められる anoikis と非常によく類似していた。そこで細胞骨格を共焦点レーザー顕微鏡にて観察を行うと、F-actin の走行に異常が認められた。さらに核クロマチン染色により apoptosis が生じていることが確認されたことより、ER 阻害によっても anoikis が起こっていることが示唆された。ER 阻害による細胞の浸潤能を invasion assay にて検討したところ、tamoxifen により濃度依存的に癌細胞の浸潤が抑制された。

ER 阻害による増殖浸潤抑制のメカニズムを解明するため細胞接着に関与するシグナル伝達系の活性化についてウェスタンブロットにて解析した。Tamoxifen 処置によって、focal adhesion kinase (FAK) のリン酸化が抑制され、その結果、Erk 経路の活性化も抑制された。

これらの結果により、ER antagonist 処置により、FAK のリン酸化が抑制され、その下流のシグナル伝達系が阻害されることにより細胞の接着が阻害され、anoikis が生じ、細胞の増殖・浸潤が抑制されたものと考えられた。

さらに高濃度の tamoxifen 処置により、Erk の経路を介した細胞の増殖に重要な役割を果たしている EGF receptor の mRNA、及びタンパクの発現が抑制されており、ER 阻害による細胞の増殖抑制の重要なメカニズムのひとつであることが示唆された。

同じように PPAR γ の阻害による細胞増殖抑制作用は、腺癌及び扁平上皮癌など様々な癌細胞に同じように認められることから、共通の増殖抑制機序が存在する可能性が考えられた。そこで私は PPAR γ を阻害することによって変化する遺伝子に着目し、DNA マイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子解析を行った。その結果、PPAR γ によって発現が制御されている分子のひとつに Glutamate cysteine ligase, catalytic subunit (GCLC) が認められたので、その発現を培養癌細胞で検討した。大腸癌や口腔扁平上皮癌などの細胞で GCLC の高い発現が認められた。この発現は PPAR γ の阻害により促進され、活性化によって抑制された。さらにヒト癌組織切片においても GCLC の発現が認められた。GCLC はグルタチオン (GSH) 合成の律速酵素のサブユニットであり、GSH レベルを変化させることによって PPAR γ が癌細胞の増殖を制御している可能性が示唆された。

(まとめ)

核内受容体の PPAR γ や ER を特異的 antagonist にて阻害することで、FAK のリン酸化が抑制され、細胞接着を阻害することが認められた。これらの作用は PPAR γ 及び ER 両方に認められたことにより、核内受容体阻害による細胞増殖抑制の共通したメカニズムである可能性が示唆された。同時に、ER 阻害では EGF receptor の発現抑制や、PPAR γ 阻害では GCLC の発現増加といった各々の核内受容体固有のメカニズムによっても癌細胞の増殖・浸潤が抑制されたものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

本研究は、口腔扁平上皮癌の組織や培養細胞を用い、核内受容体の発現、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、核内受容体の ER や PPAR γ を特異的に阻害することで、FAK のリン酸化が抑制され細胞接着が阻害されることにより apoptosis が誘導された。同時に ER 阻害では EGF receptor の発現抑制や、PPAR γ 阻害では GCLC の発現増加によるグルタチオンの過剰合成といった各々の核内受容体固有のメカニズムによっても癌細胞の増殖・浸潤が抑制された。

本研究は、癌における核内受容体の役割と阻害剤の作用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。