

Title	Inhibitory effect of PPAR $\gamma$ on NR0B1 in tumorigenesis of lung adenocarcinoma
Author(s)	須崎, 剛行
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59743">https://hdl.handle.net/11094/59743</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

【35】

氏 名	須 崎 剛 行
博士の専攻分野の名称	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	第 2 5 6 6 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科外科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	Inhibitory effect of PPAR $\gamma$ on NROB1 in tumorigenesis of lung adenocarcinoma (肺腺癌の腫瘍形成における PPAR $\gamma$ の NROB1 に対する抑制効果)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥村 明之進 (副査) 教 授 熊ノ郷 淳 教 授 野口 眞三郎

## 論文内容の要旨

器の悪性腫瘍の治療にも応用・発展が期待されます。以上より、学位授与に相当する価値ある研究と考えます。

### 〔目的〕

Orphan nuclear receptorであるNROB1は別名を DAX-1(dosage-sensitive sex reversal, adrenal hypoplasia congenital critical region on X chromosome, gene 1)と呼び、先天性副腎低形成の原因遺伝子として知られている。最近、NROB1が子宮内膜癌、卵巣癌、前立腺癌、Ewing肉腫などの悪性腫瘍と関連があることが報告されている。我々は、NROB1が肺腺癌において、腫瘍の試験管内コロニー形成能、免疫不全マウスにおける腫瘍形成能、抗癌剤に対するアポトーシス抵抗性、浸潤する能力を促進する作用があることをこれまで報告した。しかしながら、肺腺癌におけるNROB1の制御に関しては不明であった。脂肪細胞において、NROB1がPPAR $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$ )の転写活性を抑制することが報告されている。PPAR $\gamma$ はnuclear receptorのひとつで、肺癌細胞のアポトーシス、細胞周期停止を誘導することが知られている。今回、肺腺癌におけるNROB1とPPAR $\gamma$ の相互作用と、その臨床的意義について検討した。

### 〔方法〕

- ① NROB1、PPAR $\gamma$ の発現ベクターを各々作製し、肺腺癌細胞株である A549 および PC9 に transfection し、luciferase assay で PPAR $\gamma$  の転写活性を分析した。
- ② NROB1 の N 末側を欠失させた deletion construct (del-NROB1) 発現ベクターを作製した。 PPAR $\gamma$  と、NROB1 または del-NROB1 発現ベクターを、HEK293T 細胞株に transfection し、両者が heterodimer を形成するか immunoprecipitation assay を用いて分析した。
- ③ 肺腺癌幹細胞マーカーとして注目されている ALDH(Aldehyde dehydrogenase) 3A1 と NROB1、PPAR $\gamma$  の関連を調べた。まず、A549 細胞株用い、Tet-Express(tetracycline) 誘導性 NROB1 発現細胞株を作製した。この細胞株に、Tet-Express ならびに PPAR $\gamma$  の特異的 antagonist である GW9662 を加え、ALDH3A1 の mRNA レベル、ALDH 発現細胞数の変化を、real-time RT-PCR ならびに Aldefluor assay を用いて分析した。
- ④ 当科にて手術を行った、p-Stage IA 肺腺癌 52 症例のパラフィン包埋切片を、NROB1、PPAR $\gamma$  で免疫染色を行い、0 ~2 で score 化し、Kaplan-Meier 法を用いて全生存期間(OS)ならびに無再発生存期間(DFS)との相関を解析した。つぎに、新たに N-P score = (NROB1 score) - (PPAR $\gamma$  score) を定義し、N-P score <=0 を low N-P、N-P score >=1 を high N-P に再分類した。これら 2 群について、Kaplan-Meier 法を用いて OS、DFS との相関を解析した。

### 〔成績〕

- ① PPAR $\gamma$  の転写活性は、NROB1 により抑制され、肺腺癌細胞において、NROB1 が PPAR $\gamma$  の転写活性を制御し得ることが示された。
- ② NROB1 と PPAR $\gamma$  が heterodimer を形成し、PPAR $\gamma$  転写活性が抑制されたのに対し、del-NROB1 は PPAR $\gamma$  と heterodimer を形成しなかった。よって、NROB1 の N 末側が PPAR $\gamma$  との heterodimer 形成に必要であることが示された。
- ③ Real-time RT-PCR において、NROB1 発現亢進または PPAR $\gamma$  発現抑制により、ALDH3A1 mRNA レベルは上昇し、両者により、ALDH3A1 mRNA レベルが相乗的に上昇した。また、Aldefluor assay において、ALDH 発現細胞数の変化も同様であった。よって、NROB1 および PPAR $\gamma$  の発現により、ALDH3A1 は制御されていることが示された。
- ④ NROB1 score が高いと、OS、DFS は低下した。N-P score は、high N-P 群に OS、DFS の低下を認め、さらに、NROB1 score では 1 または 2 だが、生存中の 15 例 (再発 1 例) が low N-P 群として再分類され、より正確な予後予測因子であることが示唆された。

### 〔総括〕

肺腺癌細胞株において、NROB1はPPAR $\gamma$ の転写活性を抑制し、ALDH3A1の発現を促進する。肺腺癌症例において、NROB1とPPAR $\gamma$ 双方の発現の比較が、肺腺癌のよりよい予後予測因子となりうる。

## 論文審査の結果の要旨

上記学生は、当教室において「肺腺癌の腫瘍形成におけるPPAR $\gamma$ のNROB1に対する抑制効果」に関する研究について従事しました。本研究は、肺腺癌において、NROB1の発現が悪性度と関連しており、PPAR $\gamma$ はその作用を抑制することを明らかにしたものです。本研究の結果は、肺腺癌治療において、新たな予後予測因子ならびに分子標的としての可能性を示すものであり、肺癌臨床に携わる呼吸器外科の観点から興味深い研究成果であります。また、肺癌以外の他臓