

氏 名	はし 橋 本 洋 右
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2722 号
学位授与の日付	平 成 16 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学位論文題目	Growth inhibition through activation of peroxisome proliferator-activated receptor γ in human oesophageal squamous cell carcinoma (食道扁平上皮癌におけるペルオキシソーム増殖剤応答性レセプター γ の活性化を介した増殖抑制)
論文調査委員	(主 査) 教 授 野 田 亮 教 授 千 葉 勉 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

(緒言)

進行食道癌の予後は不良で、新たな治療法の確立が求められている。食道扁平上皮癌では retinoid が食道癌治療の臨床応用段階にあり核内受容体を介した増殖抑制が報告され、一方、Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) は脂肪細胞の分化に関与する核内受容体の一つであり、脂肪細胞はその分化過程で最終分化を迎えるとき、増殖が停止する。申請者は食道扁平上皮癌細胞株における PPAR γ 、およびこの受容体とヘテロダイマーを形成する Retinoid X receptor α (RXR α) の発現と PPAR γ /RXR α ヘテロダイマーの役割について検討した。

(材料と方法)

(1) 食道扁平上皮癌細胞株10株を用い、PPAR γ と RXR α の発現を検討した。(2) これら細胞株のうち KYSE180, KYSE270, KYSE450, KYSE180, KYSE960 細胞に PPAR γ のリガンドであるトログリタゾンと RXR α のリガンドである 9-シスレチノイン酸をそれぞれ単独あるいは同時投与し、増殖抑制効果を検討した。(3) KYSE270 細胞における PPAR γ /RXR α ヘテロダイマーの転写活性を、その応答配列をもったレポータープラスミドを導入しルシフェラーゼアッセイで検討した。(4) 増殖抑制効果の機序について FACScan、ヘキスト・ヨウ化プロビジウム染色を行い、また poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) 蛋白の切断の有無を検討した。(5) KYSE270 細胞をヌードマウス12匹 (コントロール群 6 匹、トログリタゾン投与群 6 匹) の皮下に注入して、腫瘍増殖に対するトログリタゾン経口投与の効果を検討した。

(結果)

(1) PPAR γ と RXR α は全ての細胞株に mRNA、蛋白レベルで発現していた。(2) トログリタゾンと 9-シスレチノイン酸をそれぞれ単独投与あるいは同時投与すると、検討した 4 株全てで細胞増殖は抑制され、同時投与で効果は増強した。(3) KYSE270 細胞でルシフェラーゼアッセイを行ったところ、リガンドの単独投与により転写活性は約 5 倍に増強され、同時投与で約 20 倍に転写活性が増強された。(4) FACScan にて細胞周期解析を行うとコントロール、9-シスレチノイン酸投与群、トログリタゾン投与群、同時投与群は subG1 期がそれぞれ 6.5%, 9.5%, 28.6%, 70.1% を占めており、また、ヘキスト・ヨウ化プロビジウム染色にてリガンド投与によるアポトーシス細胞の増加を確認した。アポトーシス誘導がカスパーゼの活性化を介するか否かを PARP 蛋白の切断の有無で検討したところ単独投与では 36 時間後に PARP 蛋白の切断が確認されたのに対して同時投与では 24 時間後から確認された。(5) KYSE270 細胞をヌードマウスの皮下に注入して、腫瘍増殖に対するトログリタゾン経口投与の効果を調べたところ有意な増殖抑制を観察した。

(結論)

PPAR γ と RXR α ヘテロダイマー系が食道癌細胞において転写活性を有し、癌細胞にアポトーシスを誘導することが示唆されたことから PPAR γ と RXR α ヘテロダイマー系が食道癌治療に対する新たな標的となる可能性が考えられた。

論文審査の結果の要旨

申請者は10株の食道扁平上皮癌細胞株を用いて核内受容体PPAR γ とRXR α ヘテロダイマー系を検討した。

PPAR γ とRXR α がmRNA、蛋白レベルで全ての細胞株に発現しており、それぞれのリガンドであるトログリタゾン、9-シスレチノイン酸で細胞増殖は抑制され、また平行投与で効果は増強した。特に並行投与時に増殖抑制の顕著であったKYSE270細胞を用いた実験では、リガンド投与によりリポーター・ルシフェラーゼ活性は増強し、特に並行投与で有意に増強された。リガンド投与によりフローサイトメトリーでsubG1期の増加が、ヘキスト・PI染色で主にアポトーシス細胞の増加が認められた。またリガンド投与によるPARP蛋白の切断が確認された。ヌードマウス皮下腫瘍移植モデルにおけるトログリタゾン経口投与の結果、移植腫瘍の増殖が抑制された。すなわち、PPAR γ /RXR α ヘテロダイマー系の薬剤による活性化がin vitroでもin vivoでも食道癌細胞の増殖を抑制し、その機構としてカスパーゼの活性化を伴うアポトーシスが考えられた。

以上の研究はPPAR γ /RXR α ヘテロダイマー系と癌との関連の解明に貢献し、食道癌治療の新たな選択肢の開拓に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成15年1月19日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。