

論文の内容の要旨

論文題目 PPAR γ アゴニストによる化学療法抵抗性がん細胞の凝集塊形成に関する研究

氏名 中島 健太

本論文では、脂肪細胞分化誘導能を有する PPAR γ アゴニストが上皮間葉転換 (Epithelial-Mesenchymal Transition :EMT) 阻害作用を示すことによって、化学療法抵抗性を有する胃癌細胞株 MKN45 の化学療法抵抗性を解除する可能性を検討することを目的とした。MKN45 に対して PPAR γ アゴニストが、MKN45 の細胞形態、EMT 関連遺伝子の発現変動に及ぼす効果を検証したのち、in vivo モデルでは、化学療法剤と PPAR γ アゴニストの併用による相乗的な抗腫瘍効果について検証した。さらに、MKN45 細胞の PPAR γ アゴニストによる形態変化に着目し、プロテオミクス解析による EMT 阻害作用に特異的に関わる PPAR γ との相互作用タンパクの同定、およびトランスクリプトーム解析による原因遺伝子の同定を行った。

第1章では、PPAR γ の生理機能、および癌細胞におけるPPAR γ の関与、さらに癌細胞におけるEMTとその臨床的課題、およびPPARと癌細胞のEMT阻害作用について既報を中心に論じた。

第2章では、MKN45細胞にチアゾリジンジオン系(TZD) PPAR γ アゴニストを処理することにより、細胞凝集塊を形成することを明らかにした。次に、選択的PPAR γ パーシャルアゴニストComp Aを取得し、MKN45細胞凝集塊形成に及ぼす影響を検討した結果からComp Aが用量依存的に細胞凝集塊形成を促進すること、MKN45細胞の細胞凝集塊形成とPPAR γ アゴニストによる脂肪細胞分化誘導能とが正相関することを見いだした。また、PPAR γ アゴニストによる細胞凝集塊形成がPPARG siRNAによって減弱されること、トランスクリプトーム解析の結果において、Comp AはMKN45細胞において既知のPPAR γ 標的遺伝子に加え、癌細胞の分化、転移、EMT、TGF β 経路に関連する遺伝子を多数制御し、上皮系マーカーの発現亢進、および間葉系マーカーの発現抑制を誘導することを明らかとした。これらの遺伝子発現制御がPPARG siRNAによるPPAR γ の発現低下条件においては減弱されることを示した。さらには、マウス *in vivo* MKN45 静脈内投与転移モデルにおいてPPAR γ アゴニストがマウスの生存期間を延長させる傾向を示したこと、マウスゼノグラフトモデルにおいて抗腫瘍効果を示さないCDDPがPPAR γ アゴニストとの併用によって用量依存的に抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

第3章では、PPAR γ アゴニストによるMKN45細胞凝集塊誘導に関与する共役因子を同定することを目的として、PPAR γ のモノクローナル抗体を用いたショットガンプロテオミクス法にてPPAR γ アゴニスト存在下におけるPPAR γ 相互作用タンパク質を同定した。Comp A処理時に相互作用が同定された約150個の相互作用タンパク質の中からPPAR γ パーシャルアゴニストComp Aの存在下で同定されたペプチド数が2倍以上増加するタンパク質として6種(MED12、MECP2、MED4、PHB2、BCLF1、ITB4)

を同定した。この結果を踏まえ、MED12 を MKN45 細胞にてノックダウンすると、PPAR γ アゴニストによる細胞凝集塊形成が減弱した。さらに PPARG および MED12 siRNA 処理した MKN45 細胞における Comp A のトランスクリプトーム解析の結果より、PPAR γ -MED12 依存的に制御される遺伝子として FCGBP を同定した。FCGBP をノックダウンした MKN45 細胞では PPAR γ アゴニストによる細胞凝集塊形成が減弱した。

第 4 章では、第 2 章および第 3 章において得られた結果から MKN45 細胞における PPAR γ アゴニスト依存的な転写複合体形成に伴う可塑性制御に関わる遺伝子発現制御機構、PPAR γ による糖・脂質代謝制御と可塑性制御および選択的 PPAR γ アゴニストの治療薬としての可能性について考察した。

以上の結果より、PPAR γ アゴニストは EMT を阻害することによって化学療法抵抗性を有する MKN45 細胞の治療抵抗性を解除することを示した。また、PPAR γ アゴニストによる MKN45 細胞の凝集塊形成作用は、脂肪細胞分化誘導能と相関していること、PPAR γ 依存的であること、PPAR γ 選択的パーシャルアゴニストの Comp A にも凝集塊形成作用が認められることから、PPAR γ には糖・脂質代謝に関わる遺伝子発現制御に加え、細胞の可塑性制御にかかわる遺伝子発現の転写制御機構の存在が示唆された。また、MKN45 細胞において PPAR γ -RXR α ヘテロ二量体はメディエーター複合体と複合体を形成しており、PPAR γ アゴニストの結合に伴いさらに MED12 がリクルートされること、また、PPAR γ -MED12 下流で制御される遺伝子のうち、FCGBP 誘導作用が、MKN45 細胞の凝集塊形成に関与することが示唆された。