

# 博士論文（要約）

PPAR $\gamma$  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

中島 健太

癌研究領域において、癌細胞の上皮-間葉転換 (Epithelial Mesenchymal Transition: EMT) が注目されている。EMT は癌の治療抵抗性、癌細胞の転移能の獲得の原因であると報告されている (Polyak K. et al., 2009)。本論文では、脂肪細胞分化誘導能を有する PPAR $\gamma$  アゴニストが、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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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。

MKN45 細胞にチアゾリジンジオン系 (TZD) PPAR $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  標的遺伝子に加え、癌細胞の分化、転移、EMT、TGF- $\beta$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  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。

次に、PPAR $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  アゴニスト存在下における PPAR $\gamma$  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 $\gamma$  パーシャルアゴニスト Comp A の存在下で結合が誘導されるタンパクとして MED12 を見出した。MED12 を MKN45 細胞にてノックダウンすると、PPAR $\gamma$  アゴニストによる細胞凝集塊形成が減弱した。さらに PPAR $\gamma$  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 $\gamma$ -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 $\gamma$  アゴニストによる細胞凝集塊形成が減弱した。

以上の結果より、PPAR $\gamma$  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 $\gamma$  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 $\gamma$  依存的であること、PPAR $\gamma$  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 $\gamma$  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、PPAR $\gamma$  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 $\gamma$ -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。