

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K11244

研究課題名(和文) 核内受容体制御系を用いたがん制御と分子メカニズムに関する研究

研究課題名(英文) Research of the regulation of carcinoma by inhibition of nuclear receptor pathway and molecular mechanism.

研究代表者

増田 智丈 (Masuda, Tomotake)

大阪大学・歯学研究科・招へい教員

研究者番号：20510978

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに口腔扁平上皮癌において、核内受容体PPARgammaによって発現をコントロールされているFABP4が高発現していることを組織学的検討により確認していた。さらにFABP4を特異的にノックダウンすることにより、培養癌細胞の増殖を有意に抑制すること、さらにそのメカニズムも明らかにすることができた。PPARgammaによって直接発現をコントロールされている分子が、扁平上皮癌の増殖をコントロールしていることを明らかにしたことは非常に意義深く、がんの増殖や浸潤・転移を抑制し、新たな治療法となる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We have reported that PPARgamma is highly expressed in oral squamous cell carcinoma and regulate the pathway of FABP4. In this study, we found FABP4 is ectopically expressed on Squamous cell carcinoma. Knockdown of FABP4 by siRNA in cultured cell lines of Squamous cell carcinoma dramatically suppressed the cell growth. These results imply a potentially important and novel role for the inhibition of FABP4 function in the treatment of squamous cell carcinoma and the prevention of tumor invasion and metastasis.

研究分野：口腔外科学

キーワード：核内受容体 扁平上皮癌 転移 増殖 浸潤

## 1. 研究開始当初の背景

近年がんに対する分子標的治療について研究され、また臨床応用されつつある。頭頸部癌に対する治療の多くのケースで最終的に外科的治療が必要となるが、手術後は顔貌の変化・摂食障害・嚥下障害・発音障害など患者の QOL を著しく低下させる。また、遠隔転移に起因する失命は最も大きな問題である。分子標的治療にさらなる改善が加われば、局所的にがんをコントロールできる可能性がある。本研究において、申請者が以前より研究を行ってきた核内レセプター **PPAR $\gamma$**  経路を不活性化することによる抗がん作用のさらなる詳細なメカニズムを検討し、また臨床応用に向けた基礎的研究を行うことにより、将来的に臨床の場へフィードバックできると考えている。

## 2. 研究の目的

**PPAR $\gamma$**  (Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma) は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レセプターであり、転写調節因子としてその生理作用を発揮する (図 1)。PPAR $\gamma$  の生理作用として、インシュリン感受性、脂肪細胞の分化、脂質酸代謝などがすでに報告されているが、近年、動脈硬化、炎症、そして癌化に関する報告も散見されるようになってきた。PPAR $\gamma$  とがんに関する研究は種々のがんにおいて報告が散見されるが、画一的な見解は得られておらず、その実は混沌としている。そこで申請者は口腔扁平上皮癌と PPAR $\gamma$  の関係について検討を行ってきた。これまでに、口腔扁平上皮癌において正常組織に比べ、癌部において PPAR $\gamma$  蛋白が有意に高発現していることを確認した (図 2)。また口腔扁平上皮癌培養細胞においても繊維芽細胞と比べ、PPAR $\gamma$  が高発現していることを確認し、その関連性は高いと考え、次に PPAR $\gamma$  経路を活性化 (アゴニスト処置)、不活性化 (アン

タゴニスト処置・si-RNA 導入) したところ、不活性化により明らかな増殖抑制を生じることを確認した。この PPAR $\gamma$  経路の不活性化による増殖抑制のメカニズムについて更なる検討を加え、細胞の接着が阻害され、その結果アポトーシスを生じていることを明らかにした。この現象は 1994 年に Frishらによって初めて報告された **アノイクス** という現象と一致するものであった (*The Journal of Cell Biology*, 124 619-626, 1994)。アノイクスは同論文内で「細胞外基質と上皮細胞間での接着障害によって引き起こされるアポトーシス」と定義されている。

更なるメカニズムの検討の結果、インテグリンシグナルから始まる FAK (Focal adhesion kinase) リン酸化抑制、MAPK (Mitogen activated protein kinase) 系の細胞内情報伝達分子のリン酸化抑制が生じていることを確認した。また PPAR $\gamma$  の不活性化は細胞骨格形成、細胞の浸潤能をも抑制していた。

次にこの口腔扁平上皮癌において見られた現象が種々のがんにおいても同様に生じることであるのかを、食道癌、膵臓癌、大腸癌、肝細胞癌の組織切片、細胞を用いて検討したところ、全てのがんにおいて PPAR $\gamma$  の強い発現を認め、またそのアンタゴニストによって増殖抑制 (食道癌、大腸癌、肝細胞癌) 接着の阻害 (食道癌、肝細胞癌) 浸潤抑制 (食道癌) 動物モデルを用いた転移実験での転移抑制 (大腸癌) が生じていることを確認した。

つまり口腔扁平上皮癌において見られた抗腫瘍効果はあらゆるがん細胞において共通のものであり、そのメカニズムの更なる検討は非常に重要なことと考え、種々のがん細胞に対しアンタゴニスト処置を行い、その遺伝子発現がどのように変化しているかを Gene chip を用いて検討を行うこととした。膵臓癌細胞 (Capan-1) 食道癌細胞

(KYSE140)大腸癌細胞(HT-29)を用いてアンタゴニスト処置したサンプルを約3万の遺伝子の乗ったGene chipに作用させ、その遺伝子変化を解析した。そして全ての細胞系で同様の变化をした遺伝子を共通メカニズムと考え、その発現量、遺伝子発現の变化量、PPRE(PPAR $\gamma$  responsive element)の有無からセレクションを重ね、ターゲットとなりうる遺伝子を選出した。本研究ではこれまでの研究結果から、さらなる検討を加えていくことを目的とした。

### 3. 研究の方法

遺伝子解析の結果からPPAR アンタゴニストによる抗腫瘍効果のターゲット遺伝子として選出された遺伝子についての検討を行う必要があると考える。これまでにGene chipによる検討から数個のターゲット候補遺伝子を選出してそのsi-RNAを作成し抗腫瘍効果の判定を行ってきた。その結果得られた分子に対するさらなる検討を行った。

### 4. 研究成果

PPAR $\gamma$  は核内転写調節因子として働き、種々の分子の発現を制御している。その分子の一つがFatty acid-binding protein (FABP)であった。FABPの中でも特にFABP4が扁平上皮癌の癌部に特異的に高発現していることを患者から採取した組織切片を用いた解析で明らかになった。さらに培養細胞でも高い発現が認められたことから、このFABP4をsiRNAを用いて特異的にノックダウンすることを試みた。その結果、培養癌細胞の増殖を有意に抑制することができた。これらの結果からFABP4も癌細胞の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。さらに現在、このPPAR $\gamma$ によって発現をコントロールされている他の分子についても

検討中であり、より詳細な研究を進めていく予定である。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 0件)

[学会発表](計 0件)

[図書](計 件)

[産業財産権]  
出願状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

### 6. 研究組織

#### (1)研究代表者

増田 智文 (MASUDA, Tomotake)  
大阪大学・歯学研究科・招へい教員  
研究者番号：20510978

#### (2)研究分担者

石本 俊介 (ISHIMOTO Syunsuke)  
大阪大学・歯学研究科・招へい教員  
研究者番号：40585725

和田 孝一郎 (WADA Koichirou)  
島根大学・医学部・教授  
研究者番号：90263467

(3)連携研究者

(4)研究協力者