PPARs 阻害による大腸癌細胞でのアノイキス誘発と浸潤転移抑制への応用

高橋 宏和, 中釜 斉

要約: 脂肪細胞の分化誘導因子として研究されてきた PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) は脂肪細胞および腸管に発現が認められているが、近年ほとんどすべての癌において多量に発現していることが報告されており、PPAR γ が癌に対し何らかの作用を有することが示唆されている。これまで PPAR γ の活性化が抗炎症作用・発癌抑制作用を示すことを報告してきたが、抑制した場合の作用は明らかにされていない。PPAR γ 阻害薬は培養癌細胞において接着・増殖・転移能を減少させ、アノイキスをきたした。アノイキス (anoikis) とは足場を確保できない細胞がアポトーシスを起こす現象である。阻害薬の作用解析が PPAR γ の機能を解明する上で重要であることが示唆された。PPAR γ のリガンドはインスリン抵抗性改善薬として安全性が確立し臨床応用されているが、阻害薬では現在認可されているものではなく作用機序・安全性などを詳細に解明することにより癌浸潤・転移抑制の分子標的として既存の抗癌剤との併用による相乗効果の誘導、副作用の軽減、QOL の維持など臨床応用への可能性が考えられる。また、われわれはマウス発癌モデルにおいて PPAR γ のリガンド投与が大腸癌の発生のみならず大腸前癌病変である Aberrant Crypt Foci (ACF) の発生を抑制し、化学発癌予防に有効であることを世界に先駆けて報告してきた。近年、拡大内視鏡の進歩によりヒトにおける ACF の観察が可能となったが、PPAR γ リガンド投与でヒト大腸 ACF が消退・消失することが確認できた。ACF をメルクマールとした PPAR γ リガンドによる大腸化学発癌予防のトランスレーショナルリサーチを現在検討中である。

はじめに

PPAR は細胞内小器官であるペルオキシソームの増殖剤により活性化される受容体として 1990 年に発見され(1)、現在までに α , δ , γ の 3 種類のサブタイプが存在し、それぞれ発現する組織が異なることが明らかにされている(2)。特に PPAR γ に関しては脂肪組織に顕著に発現していることから(3,4)、脂質代謝や糖代謝への作用が注目され、その選択的なリガンドであるチアゾリジン誘導体は、脂肪細胞の分化促進(5-7)、インスリン抵抗性改善(8-9)などの作用を有し、抗糖尿病薬として世界的に広く使用されるに至った。その後 PPAR γ は脂肪組織以外にも消化管、特に腸管に多量に発現していることから(3,4)、腸管において生理的に何らかの重要な役割を果たしており、その制御機構の破綻は炎症や癌化に関与すると考えられ、各種疾患の発症メカニズムや分子標的治療のターゲットとして各方面から研究がなされている。

1. 大腸癌モデルマウスにおける PPAR γ の役割

PPAR γ は正常大腸にも多量に発現を認めるが、その生理的意義については明らかにされていない。1998 年に PPAR γ の活性化が発癌を促進するもしくは抑制されるという相反する報告がされた(10-12)。これらの報告により PPAR γ と大腸癌の関係はしばらく統一した見解を得ることはできなかった。

しかし、その後は PPAR γ が大腸癌に対して抑制的に作用するという報告が相次いでなされ(13,14)、われわれも azoxymethane (AOM) を用いた化学発癌モデルにおける検討から、PPAR γ リガンドが大腸前癌病変で、巨大な腺管の集族である aberrant crypt foci

キーワード: PPARs, アノイキス, 大腸癌, 浸潤, 転移

国立がんセンター研究所 生化学部 (〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1)

e-mail: hirokazu@med.yokohama-cu.ac.jp 原稿受領日: 2006 年 7 月 13 日, 会誌編集委員会依頼原稿

Title: Decreased PPARs activity mediated induction of anoikis and inability of cell adhesion and invasion in colorectal carcinoma cells

Author: Hirokazu Takahashi, Hitoshi Nakagama

図1 PPAR γ アンタゴニストによる大腸癌細胞の形態変化

PPAR γ の活性阻害はアクチンストレスファイバー、膜アクチンなど細胞骨格に作用し、大腸癌細胞を球状に変化させた。(文献 29 より改変)

(ACF) (図 2 を参照) や大腸腫瘍の発生を有意に抑制することを報告した(15)。

近年のわが国における大腸癌の増加には、高脂肪食、炎症、COX-2、腸内細菌などが要因として挙げられているが、否定的な報告も散見する。PPAR γ は特に大腸発癌に関係する可能性があり、さらなる詳細な検討が必要である。

2. 大腸上皮における PPAR γ の役割

PPAR γ リガンドは大腸癌細胞をはじめとして(13, 14)、食道癌、胃癌、膵癌などの消化器癌や(16-18)、肺癌、乳癌、前立腺癌などの種々の癌でアポトーシスを誘導することが報告されており(19-21)、そのメカニズムとしてNF- κ BやBcl-2を抑制する、G1 arrest (G1 期停止) を起こすなどが考えられている(22, 23)。

一方、大腸発癌においてはAPC遺伝子とその下流に存在する β -cateninが転写調節因子として重要な役割を果たしている。

PPAR γ の大腸発癌におけるメカニズムにも β -cateninの関与が考えられており、われわれの検討でもPPAR γ の活性化はWntシグナル系の構成因子である β -catenin/Tcfに作用し、その下流のc-myc, cyclin D1の発現を著明に抑制した。

大腸上皮は増殖とアポトーシスのバランスを保ちながら秩序だった構造と機能を果たしている。PPAR γ

リガンドは大腸癌細胞に対しアポトーシス誘導作用・細胞増殖抑制作用を有しており、大腸粘膜における上皮回転をコントロールしている可能性がある。

3. 大腸癌細胞における PPAR γ の活性阻害

リガンドによるPPAR γ の活性化は癌細胞の増殖を抑制するが、逆にPPAR γ の活性を阻害するとどのような効果が認められるのであろうか。PPAR γ の活性を阻害する方法としてはT0070907やGW9662などのPPAR γ の特異的アンタゴニストを用いる方法と、siRNA (small interfering RNA) を用い遺伝子レベルで活性を抑える方法がある。

これまでPPAR γ の活性阻害に関する研究はなされていなかったが、2005年にアノイクスと呼ばれる現象を起こすことが報告された(24)。アノイクスとは足場依存性細胞において細胞外マトリックスとの接着喪失により細胞がアポトーシスに陥る現象をさす(25)。われわれは大腸癌培養細胞において、PPAR γ 活性の減少により、actinやpaxillinなどの細胞骨格が変化し(図1)、足場依存的な細胞増殖が抑制され、剥離浮遊してくることを見出した。アノイクス現象では細胞と基質の接着の阻害が重要なメカニズムであると考えられており、メカニズムの解明は癌細胞の浸潤や転移のコントロールにつながる可能性がある。

ヒトACFの拡大内視鏡所見

ヒトACFの病理組織学的所見

図2 ヒトACFの拡大内視鏡所見および病理組織学的所見
ACFはメチレンブルーに濃染し正常腺管の2～3倍ほどの大きな腺管から構成される。(文献29より改変)

4. 分子標的治療への応用

基礎的な研究から明らかになってきた PPAR γ の大腸癌に対する抑制的な効果は、予防薬や治療薬としての可能性を強く示唆している。このようなトランスレーショナルリサーチは大腸化学発癌予防を目指して米国を中心に大規模トライアルとして進められている。特に大腸癌は多段階発癌による分子メカニズムが最もよく解明されており、腺腫や癌の既往歴を有する患者など、大腸癌のいわゆるハイリスクグループが明らかにされていることから、大腸癌は化学予防の対象として積極的に臨床試験が行われている。

これまでの大腸癌の化学予防に関する臨床試験ではポリープや癌が対象となっていたが、現在ではより早期の段階の病変である ACF を標的とした研究が進められている。ACF は 1987 年に Bird らによって命名された巨大な腺管の集簇である (26) (図 2)。ACF は dysplasia から腺腫を経て癌になると考えられており、adenoma-carcinoma sequence の前病変であるとされている (27)。Takayama らは NSAIDs の服用によって ACF の発生率や数が減少することを報告している (28)。彼らによれば ACF を有する患者にスリンダクを投与すると、大部分の ACF がわずか 2 カ月で消失する。ヒトにおいて、われわれは同様に PPAR γ リガンドであるピオグリタゾンを用いて ACF が消失するか否か

図3 PPAR γ リガンドのヒト ACF への作用
Informed consent の得られた患者 14 名に対し下部消化管内視鏡検査施行後 pioglitazone 投与 1-6 カ月後内視鏡再検し投与前後の直腸の ACF 数を比較した。早いものでは 1 カ月で ACF の消失を認めた。(文献 29 より改変)

を検討している。予備的検討では、リガンド投与によって ACF は早いものでは 1 カ月で消失することを確認している (図 3)。

大腸癌死亡率は男性、女性ともに著増している。我が国では早期発見を目指しての内視鏡診断や治療技術は世界で最も高い水準にあるが、化学発癌予防の臨床研究は他の先進国に比べて非常に遅れている。その中で PPAR γ リガンドは、現在抗糖尿病薬として広く使用され安全性や費用対効果を考えると、化学予防への実現に極めて近いところに位置しており、今後更なる臨床的なデータの蓄積が望まれる。

おわりに

現在臨床の現場において大腸ポリープの既往、便潜血反応陽性、家族歴などで大腸癌のハイリスクグループを絞り込みこれらに対し大腸内視鏡検査や注腸造影検査などが行われているが、多大な労力と医療費をかけたこうしたサーベイランスを積極介入することが結果として大腸癌の死亡者数を減少させるか明確な答えは得られていない。進行癌の多くは根治が難しく生存期間の延長が治療の中心となっているが、早期癌は 5 年生存率が 90% を超え、早期発見・発癌予防の重要性が認識されている。米国において大腸癌の死亡率は新規抗癌剤の発見・実用にもかかわらず不変であるが心疾患では低下しており、詳細なリスク解析および効果的な薬剤による予防がこの差を生んだと考えられている。大腸発癌予防については NSAIDs による検討が多く報告されているが、COX-2 阻害薬の大規模臨床試験が重篤な副作用で頓挫しており実用化は難しい。大腸癌はリスクファクターとして前述の高脂肪食、炎症などのほかに、肥満、糖尿病、酸化ストレスなどが考

えられており生活習慣病としての一側面を持つため、インスリン抵抗性改善薬である PPAR γ リガンドを ACF など前癌病変を指標とした化学発癌予防へ応用することは合理的であり、近い将来実現されることが期待される。

文 献

- 1) Issemann I, et al. Nature. 1990;347:645-650.
- 2) Lemberger T, et al. Annu Rev Cell Dev Biol. 1996;12:335-363.
- 3) Braissant O, et al. Endocrinology. 1996;137:354-366.
- 4) Lemberger T, et al. Ann N Y Acad Sci. 1996;804:231-251.
- 5) Tontonoz P, et al. Genes Dev. 1994;8:1224-1234.
- 6) Chawla A, et al. Endocrinology. 1994;135:798-800.
- 7) Tontonoz P, et al. Cell. 1994;79:1147-1156.
- 8) Okuno A, et al. J Clin Invest. 1998;101:1354-1361.
- 9) Cantello BC, et al. J Med Chem. 1994;37:3977-3985.
- 10) Lefebvre AM, et al. Nat Med. 1998;4:1053-1057.
- 11) Saez E, et al. Nat Med. 1998;4:1058-1061.
- 12) Sarraf P, et al. Nat Med. 1998;4:1046-1052.
- 13) Yang WL, et al. Carcinogenesis. 2001;22:1379-1383.
- 14) Shimada T, et al. Gut. 2002;50:658-664.
- 15) Osawa E, et al. Gastroenterology. 2003;124:361-367.
- 16) Takashima T, et al. Int J Oncol. 2001;19:465-471.
- 17) Takahashi N, et al. FEBS Lett. 1999;455:135-139.
- 18) Eibl G, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2001;7:522-529.
- 19) Tsubouchi Y, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2000;270:400-405.
- 20) Elstner E, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:8806-8811.
- 21) Mueller E, et al. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97:10990-10995.
- 22) Brockman JA, et al. Gastroenterology. 1998;115:1049-1055.
- 23) Chen GG, et al. Life Sci. 2002;70:2631-2646.
- 24) Schaefer KL, et al. Cancer Res. 2005;65:2251-2259.
- 25) Frisch SM, et al. J Cell Biol. 1994;124:619-626.
- 26) Bird RP. Cancer Lett. 1987;37:147-151.
- 27) Pretlow TP, et al. Cancer Res. 1991;51:1564-1567.
- 28) Niitsu Y, et al. Cancer Chemother Pharmacol. 2004;54:40-43.
- 29) 高橋宏和, 他. Mebio. 2005;22:39-47.

著者プロフィール

高橋 宏和 (たかはし ひろかず)

横浜市立大学大学院医学研究科 分子消化管内科学, 助手, 医学博士。

◇1995 年東京農工大学工学部卒業, '01 年旭川医科大学卒業, '05 年横浜市立大学大学院医学研究科卒業。◇研究テーマ: 大腸癌の化学発癌予防。◇著書: ①「大腸憩室症内科学」朝倉書店 (in press)。②核内レセプター PPAR リガンドと消化器疾患〜その基礎と臨床応用への展望 Mebio Vol.22 No.11。③ PPAR γ と大腸癌。日本内科学誌 102 巻 8 号。④消化器疾患と PPARs。日本臨床 65 巻 4 号。⑤「抗生物質による腸炎。消化器疾患最新の治療」2005-2006 南江堂。

◇趣味: 一人旅, 温泉 (最近はスーパー銭湯)。

中釜 齊 (なかがま ひとし)

国立がんセンター研究所 生化学部, 部長, 医学博士。

◇1982 年 3 月東京大学医学部医学科卒業, '90 年 4 月東大病院第三内科文部教官助手, '91 年 1 月米国マサチューセッツ工科大学がん研究センター リサーチフェロー, '95 年 4 月国立がんセンター研究所発がん研究部室長, '97 年 4 月国立がんセンター研究所生化学部長。◇研究テーマ: 動物モデルを用いた大腸発がんの分子機構及び感受性要因の解明。◇趣味: 温泉旅行, スポーツ観戦。

◇著書: ①「腫瘍学総論。内科学」朝倉書店 (in press)。②「大腸癌モデル。モデル動物の作製と維持」エル・アイ・シー社, 2004。③ Mutat Res. 2006;25:598(1-2):120-131。④ Cancer Sci. 2005;96:627-636。⑤ Genes Cells. 2005;10:953-962。⑥ Gastroenterology. 2003;124:361-367。⑦ Am J Pathol. 2003;163:1607-1614。⑧ Proc Natl Acad Sci USA. 2002;99:12685-12690。