

氏名(本籍)	吉田 浩二郎 (岐阜県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 540 号
学位授与日付	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Inhibitory effects of troglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand, in rat tongue carcinogenesis initiated with 4-nitroquinoline 1-oxide
審査委員	(主査) 教授 柴田 敏之 (副査) 教授 森 秀樹 教授 森脇 久隆

論文内容の要旨

口腔癌は病理組織学的にほとんどが扁平上皮癌であり、喫煙・飲酒・歯牙や義歯からの慢性刺激などが発癌危険因子であるといわれている。現在その治療の主体は外科的切除・放射線療法・化学療法であるが、最近の治療技術の進歩にもかかわらず5年生存率は依然低く、十分な治療成績を残しているとは言い難い。そのような癌への対策として、従来の治療大系とは異なるまったく新しい戦略アプローチが求められており、そのひとつとして化学予防(cancer chemoprevention)が考えられている。また舌癌は、白板症などの前癌病変の存在や高い再発率、follow upしやすい解剖学的背景などから癌化学予防モデル疾患としての必要条件を備えており、化学予防候補物質のヒトへの外挿に際しての疾患モデルとして貢献することも期待されている。

PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ) はステロイドホルモン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のひとつで、脂質やアラキドン酸代謝産物などの内因性リガンドやチアゾリジン誘導体などの合成リガンドにより活性化され、糖脂質代謝や細胞分化を調節している。近年さまざまな腫瘍細胞株において、PPAR γ が発現していること、PPAR γ のリガンドを作用させることで細胞増殖の抑制や特定の細胞周期における停止が起こること、PPAR γ 活性化に伴い細胞分化が誘導されることなどが明らかとなっており、ある種の癌細胞に対してPPAR γ のリガンドが新たな治療あるいは予防戦略として有効である可能性が示唆されている。しかし一方で*Apc*^{Min/+} miceにおいては PPAR γ 活性化がポリープ形成増加をもたらすなど、一見相反する結果も示されており、PPAR γ の機能については不明な点も多い。

そこで今回我々は、PPAR γ のリガンドでありチアゾリジン誘導体のひとつとして知られるtroglitazoneの4-nitroquinoline 1-oxide(4-NQO)誘発ラット舌癌モデルにおける舌発癌修飾効果およびそのメカニズムについて検討した。

研究方法

1. 動物実験プロトコール

5週令の雄 F344 ラットを5群に分けた。第1~3群には、4-NQOを20ppmの濃度で6週令より8週間飲水投与を行い、舌癌を誘導した。第2群および第3群には、troglitazoneをそれぞれ30および100ppmの濃度でpostinitiation期(15~37週令)に混餌投与した。第4群は100ppm troglitazoneを単独投与し、第5群は基礎食のみとした。実験期間中、各ラットの餌摂取量と体重を定期的に測定し、37週令に5-bromodeoxyuridine(BrdU)を腹腔内投与した後に屠殺した。舌を含めた各臓器を摘出し、肝臓および腎臓はその重量を測定した。

2. 病理組織学的診断

摘出した臓器は10%緩衝ホルマリンにて固定し、パラフィン包埋を作製した。ヘマトキシリン&エオジン染色後、Banoczyらのcriteriaに従って舌病変の病理組織学的診断を行った。

3. 免疫組織学的検討

舌組織切片において、以下の免疫組織学的検討を行った。PPAR γ のポリクローナル抗体を用いて正常の舌扁平上皮および舌病変部におけるPPAR γ の発現を確認した。細胞増殖能の評価としてcyclin D1およびBrdUの免疫染色を行い、扁平上皮細胞100個あたりの陽性率を各群について比較評価した。また炎症および舌癌を含む発癌過程に深く関与するとされるcyclooxygenase(COX)-2についても免疫染色を行い、各群の染色性について半定量的に比較検討をした。

研究結果

1. tongue neoplasms (papillomaおよびSCC) のincidenceは、第1群(4-NQO単独投与群)に比べ 第2, 3群(troglitazone混餌投与群)において有意な減少を認めた。また、第3群(100ppm troglitazone混餌投与群)におけるSCCの発生率はわずか5%であり、そのmultiplicityにおいても第1群(4-NQO単独投与群)に比べ有意に減少を認めた。
2. preneoplastic lesions (hyperplasiaおよびdysplasia) のincidenceは、第1群(4-NQO単独投与群)に比べ 第2, 3群(troglitazone混餌投与群)において有意な減少を認めた。また、第3群(100ppm troglitazone混餌投与群)でのmultiplicityにおいては、dysplasiaのうち高度異型を示すものについて有意な減少を認めた。
3. 舌上皮におけるcell proliferation biomarkers (BrdU-labeling index, cyclin D1-positive ratio) の免疫組織学的検討において、第1群(4-NQO単独投与群)に比べ 第2, 3群(troglitazone混餌投与群)では有意な減少を認めた。
4. 第3群(100ppm troglitazone混餌投与群)においては、preneoplastic lesionsでのCOX-2の免疫組織学的発現について、第1群(4-NQO単独投与群)に比べ有意な減少を認めた。同群でのneoplasmsについてCOX-2強発現を示すものは認めなかった。
5. 本実験において、各群における餌の摂取量や屠殺時の平均体重の有意差、および肝臓の組織学的変化などは認めなかった。

考察

PPAR γ のリガンドであるtroglitazoneは、4-NQO誘発ラット舌癌モデルにおいて濃度依存的に舌癌の発生を抑制した。この抑制のメカニズムとして、舌上皮における細胞増殖抑制作用と病変部におけるCOX-2発現の低下が関与しているものと考えられた。本研究により、PPAR γ 活性化が舌癌の予防において有効である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者 吉田浩二郎は、4NQO誘発ラット舌癌モデルにおいてPPAR γ のリガンドであるtroglitazoneの有意の発癌抑制効果を示し、この作用について細胞増殖能およびCOX-2発現の免疫組織学的検討から、細胞増殖の抑制およびアラキドン酸カスケードが関与することを示唆した。本研究の成果はtroglitazoneの舌癌の化学予防物質としての可能性を示唆し、口腔発癌抑制の基礎研究に新知見を加えたものであり、口腔病態学の進歩に少なからず寄与するものと認められる。

[主論文公表誌]

Inhibitory effects of troglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor γ ligand, in rat tongue carcinogenesis initiated with 4-nitroquinoline 1-oxide

Cancer Science 2003, in press