

氏 名	おかもら えりな 岡村 英利奈
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第 1256 号
学位授与の日付	2021 年 3 月 31 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	Pioglitazone による PPAR $\gamma$ 活性化に他剤が及ぼす影響の検討
指 導 教 員	教授 石川 敏夫 (板橋・内科学講座)
論文審査委員	主査 教授 井上 大輔 (ちば・第三内科) 副査 教授 青山 晃治 (板橋・薬理) 副査 講師 磯尾 直之 (溝口・第四内科)

## 論文審査結果の要旨

主論文「Pioglitazone による PPAR $\gamma$  活性化に他剤が及ぼす影響の検討」は帝京医学雑誌第 6 巻 4 3 号 (2020 年) に掲載された、申請者を筆頭とする 9 名の共著論文である。

は核内受容体の一つである PPAR $\gamma$  のリガンドとなる薬物として、pioglitazone (pio) telmisartan (tel)、bezafibrate (beza) が挙げられる。Pio は PPAR $\gamma$  活性化を介してインスリン抵抗性を改善する抗糖尿病薬である。降圧薬の tel や中性脂肪降下薬は pio と比較すると PPAR $\gamma$  活性化能が弱いため、PPAR $\gamma$  の部分作動薬と考えられている。これらの薬剤は臨床現場で併用される例は少なくなないが、beza・tel の併用が pio の際に及ぼす影響は不明である。そこで本論文では、pio が誘導する PPAR $\gamma$  依存性転写活性に beza・tel の同時添加が与える影響を調べる目的で実験を行った。

培養細胞として内因性 PPAR $\gamma$  を発現しているヒト肝癌細胞株 HuH7 及び、内因性 PPAR $\gamma$  を発現していないヒト骨肉腫細胞株 U2OS を使用した。PPAR 反応性ホタルルシフェラーゼ遺伝子 (4PPRE-pGL4.26) ないしは PPRE を有さないコントロール親プラスミド (pGL4.26) を一時的に導入した HuH7 細胞、およびヒト PPAR $\gamma$ ・4PPRE-pGL4.26 を安定発現する U2OS 細胞 ( $\gamma$ +PPRElucU2OS 細胞) とその対照となる 4PPRE-pGL4.26 のみを安定発現する U2OS 細胞 (PPRElucU2OS 細胞) を準備した。これらの細胞に各種薬剤を単独あるいは同時添加して作用を調べた。その結果、以下のことが明らかとなった：

- 1) HuH7 細胞に 48 時間添加後の内因性 PPAR $\gamma$  反応性遺伝子 PTEN・CD36 の mRNA 発現量を調べた結果、PTEN の発現は PTEN の発現は pio ないし beza の単剤添加により増加する傾向がみられたが有意差は認めず、CD36 の発現は pio・beza・tel 添加で有意に変化しなかった。
- 2) PPAR $\gamma$  反応性 luc 遺伝子を一時的に導入した HuH7 細胞に 24 時間添加後の luc 活性を調べた結果、pio で増したが同時投与した beza・tel の影響はなかった。
- 3)  $\gamma$ +PPRElucU2OS pio の luc 活性は pio で増加し、その増加は beza・tel の同時添加で有意にそれぞれ増加・減少した。

本研究により beza は pio による PPAR $\gamma$  活性化を beza はさらに促進する可能性が示唆された。また、tel は pio と非競合的に PPAR $\gamma$  上の異なる部位に結合することが文献的に示唆されているが、今回の実験でも pio 1 $\times$ 、pio 10 $\times$ のどちらも同じように tel 1 $\times$ ・10 $\times$ の添加により PPAR $\gamma$  活性が減弱しており、やはり pio と tel は PPAR $\gamma$  の異なる部位に非競合的に結合することが示唆された。

以上の検討により、細胞種・遺伝子によっては pio の効果が beza・tel の影響を受けると考えられた。本研究は tel や beza の併用が pio の糖尿病に対する作用に干渉する可能性を明らかにした点で

意義深い。しかしながら、今回の *in vitro* 実験の結果の臨床的意義を精確に解釈するのは困難である。特に生体での作用を考える上では pio の本来の標的と考えられる脂肪細胞を用いた検討が必要と思われた。また、beza や tel に作用様式についても詳細が不明なままであり、その解明が課題として残った。

本論文には以上のような限界はあるものの、一定の臨床的価値を有している。また、2021 年 1 月 22 日に開催された学位審査会におけるプレゼンテーションおよびその後の質疑において、申請者は当該領域において一定レベルの知識と経験を有していることも確認された。よって学位授与に値すると判断した