


学位論文審査の結果の要旨

令和 2年 2月 18日

審査委員	主 査	松田陽子			
	副主査	西山 成			
	副主査	門脇 則光			
願 出 者	専攻	分子情報制御医学	部門	病態制御医学	
	学籍 番号	13D750	氏名	山下拓磨	
論 文 題 目	Anti-diabetic drug metformin inhibits cell proliferation and tumor growth in gallbladder cancer via G0/G1 cell cycle arrest				
学位論文の審査結果	<input checked="" type="radio"/> 合格	<input type="radio"/> 不合格 (該当するものを○で囲むこと。)			
<p>〔 要 旨 〕</p> <p>【目的】</p> <p>胆道癌はラテンアメリカやアジアに多い疾患である。我が国の胆嚢・胆管癌死亡数は徐々に増加傾向である。また胆道癌は早期発見が難しく診断時には手術適応とならないことが多い。そのため化学療法が重要となるが、使用できる抗癌剤が少ないのが現状である。</p> <p>近年、抗糖尿病薬であるMetforminが種々の癌種に対して抗癌作用を持つことが報告されている。今回、我々は、Metforminの胆管癌に対する抗癌作用を培養細胞株、実験モデル動物を用いて検討した。加えて、microRNAsについて網羅的に解析を行ったため、併せて報告する。</p> <p>【方法】</p> <p>1. <i>in vitro</i>の系：3種の胆嚢癌細胞株のMetformin投与による細胞増殖を細胞増殖assayにより検討し、種々の細胞周期関連分子の発現動態はWestern blot法により検討した。またMetformin投与がチロシンキナーゼや、血管新生関連分子に対しての影響をアレイを用いて検討した。さらにMetformin投与の細胞周期への影響を、フローサイトメトリーを利用し検討した。更にMetformin投与により、誘導されうるmiRNAsを2555分子のmiRNAsが搭載されたアレイチップを用いて網羅的に検討した。</p> <p>2. <i>in vivo</i>の系：NOZ細胞をヌードマウスに皮下移植し、Metforminが、<i>in vivo</i>においても増殖を抑制するかを検討した。</p> <p>【結果】</p> <p>1. <i>in vitro</i>の系：Metformin投与群は非投与群と比較して、3種類の胆嚢癌細胞株で増殖は抑制されていた。Metformin投与は非投与と比較し、CyclinD1, Cdk4の発現が抑制され、Rbのリン酸化は低下していた。</p> <p>また、フローサイトメトリーにおける検討でも、Metformin投与群は胆嚢癌細胞株をG1停止に導いていた。チロシンキナーゼアレイを用いた解析で、Metformin投与群では種々の分子を有</p>					

意に抑制し、また血管新生アレイでの解析にてRANTESやTIMP-1の発現を抑制し、TGF beta1の発現を亢進していた。またMetformin投与により46種類のmiRNAsの発現動態が有意に変化し、特にmiR-675-5pの発現は亢進していた。

2. *in vivo*の系：*in vivo*においてもMetformin群は胆嚢癌細胞の増殖を顕著に抑制していた。

【結論】

Metforminが胆嚢癌に対し抗癌作用を持つことを*in vitro*, *in vivo*の系において証明した。さらにmiRNAsの変化を誘導し癌細胞増殖を抑制することが示唆された。

Metforminは1950年代に開発され、安価で副作用の少ない糖尿病薬と認知されていて、臨床応用に移行しやすい状況にあると思われる。この検討により、Metforminが有用な胆嚢癌の新たな治療法となりうる可能性が示唆された。

【質疑・応答】

- ① metforminの作用がcyclin D1やmicro RNAに直接作用するのはどのような機序なのか？
→直接の作用機序は判明していないため今後の検討課題とさせていただきたい。
- ② 変化したRTKの中で細胞周期に関連したものはあったのか？
→細胞周期に関連したものはみられなかった。
- ③ metforminの作用によるmicro RNAの変化は癌種によって違うのか？
→それぞれの癌腫によって異なっている。
- ④ metforminによって抗癌作用がない癌腫はあるのか？
→これまでの報告では検索し得た範囲では抗癌作用がなかったという報告はみられなかった。
- ⑤ cyclin D1などの変化は他の癌腫でもみられた変化なのか？
→当教室での過去の報告では同様にcyclin D1を変化させG1 arrestを誘導していた。
- ⑥ 他の癌腫でもmiR-675-5pは発現が亢進していたのか？
→癌腫によって変化するmicro RNAは異なっていた。
- ⑦ 細胞株でNOZを選んだ理由は？
→中分化腺癌で臨床でよく遭遇する組織型であったため。
また、*in vivo*を念頭に置き、皮下に定着しやすいため。
- ⑧ metforminの投与量は？
→*in vitro*ではかなり多い量を使用していたが、これは培地が糖が多い状況であるため。
*in vivo*では体重計算で実臨床に近い濃度としているが、それでも効果はあった。
- ⑨ 実臨床での試験はされているのか？
→他の教室で固形癌に対してニボルマブへのmetforminの併用などが臨床試験で行われている。
- ⑩ チロシンキナーゼアレイと血管新生アレイを行ったのはなぜ？
→既報にてチロシンキナーゼアレイはよく行われていた。その中でTie-2は血管新生を亢進するとの報告があり、加えて血管新生アレイを行った。
- ⑪ miR-675-5pに着目した理由は？
→他にも抗癌作用の報告のあるmicro RNAはあったが、細胞周期に関連のあるものをpick upした
- ⑫ *in vivo*などでmetforminの副作用は？
→低血糖などの副作用は*in vivo*にて確認できなかった。

令和2年2月18日に学位論文公開審査会が開催され、論文の内容や発表、質疑応答を通して、審査員一同、山下拓磨氏が医学博士の学位に値すると判断した。

掲載誌名	ANTI-CANCER DRUGS		第 巻, 第 号
(公表予定) 掲載年月	2019年10月 受理	出版社(等)名	Wolters Kluwer

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。