

## 学位論文の内容の要旨

専攻	分子情報制御医学	部門 (平成27年度以前入学者のみ記入)	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		

## (論文要旨)

## 【目的】

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2013年の胆嚢・胆管癌死亡数は男性約8900人および女性約9300人で、それぞれ癌死亡全体の約4%および6%を占めている。胆道癌の治療には手術療法や全身化学療法などがあるが、胆道癌は自覚症状に乏しいため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。

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。更には糖尿病患者の中でMetformin内服患者が非内服者と比べて有意に癌発生者が少ないとの報告も認められる。

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、近年、研究の進んでいるmicroRNAs(細胞内に存在する、長さ20から25塩基ほどの1本鎖RNA)についてmicroarrayを用いて網羅的に解析を行ったため、併せて報告する。

## 【方法】

1. *in vitro*の系：胆嚢癌細胞株NOZ, TGBC14TKB, TGBC24TKBにて、Metformin投与による細胞増殖をcell proliferation 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投与がNOZ細胞株の細胞周期にどのように変化を与えるかを、フローサイトメトリーを利用し検討した。更にはMetformin投与により、誘導される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。

2. *in vivo*の系：NOZ細胞をヌードマウスに皮下移植し、Metforminが、*in vivo*においても増殖を抑制するかを検討した。

## 【結果】

1. *in vitro*の系：Metformin投与群は非投与群と比較して、2種類の胆嚢癌細胞株で増殖は抑制されていた(Fig.1)。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。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(Fig.2)。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(Fig.3,4)

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 familyの発現は亢進していた(Fig.5)。

2. *in vivo*の系：*in vivo*においてもMetformin投与群は非投与群と比較し、胆嚢癌細胞の増殖を顕著に抑制していた(Fig.6)。

**【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、その Metformin の抗癌作用の一つに癌抑制 miRNAs を誘導し、細胞周期の G1 期で停止させることにより癌細胞の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。

Fig.1

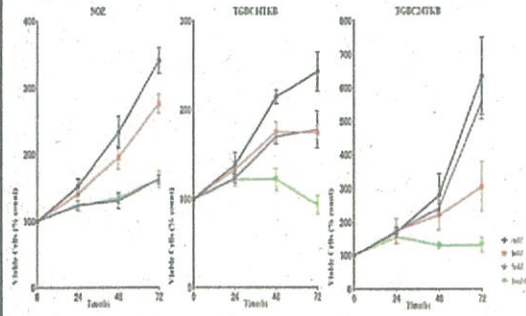


Fig.2

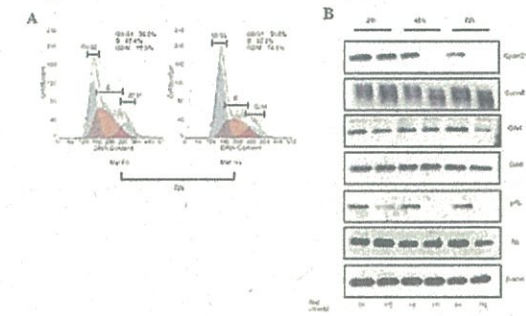


Fig.3

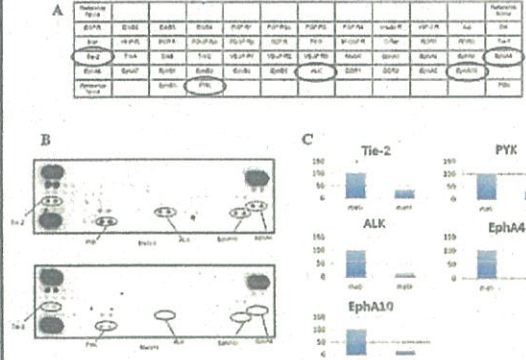


Fig.4

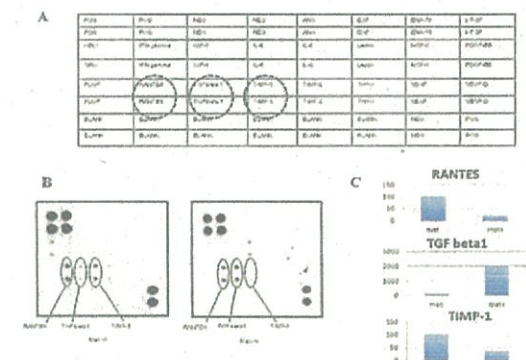


Fig.5

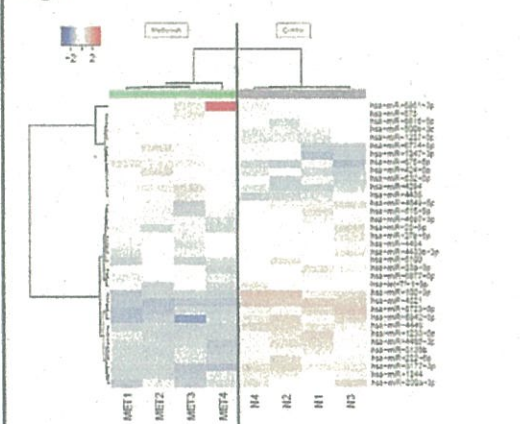
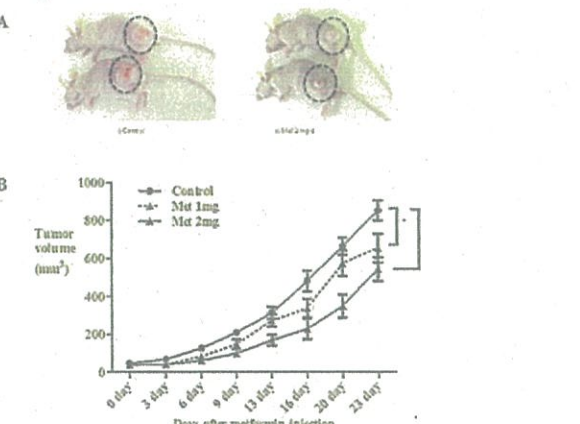


Fig.6



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

(備考) 論文要旨は、日本語で1,500字以内にまとめてください。