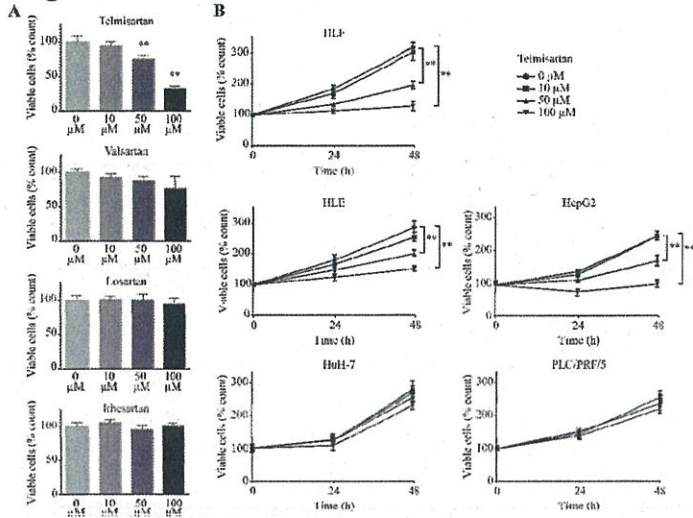


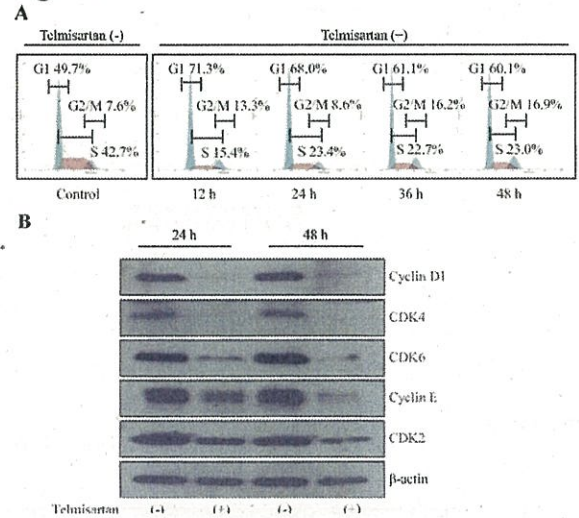
## 学位論文の内容の要旨

専 攻	分子情報制御医学	部 門	病態制御医学
学籍番号	14D731	氏 名	大浦 杏子
論文題目	Telmisartan inhibits hepatocellular carcinoma cell proliferation in vitro by inducing cell cycle arrest.		
<p>(論文要旨)</p> <p><b>【目的】</b> 昨今非ウイルス性肝細胞癌 (NBNC-HCC) が急激に増加し、高血圧や糖尿病などの生活習慣病を背景するケースが多く、その治療薬が抗腫瘍効果を有するならば、患者にとって二重のメリットがある。telmisartan は angiotensin II type1 受容体拮抗薬 (ARB) として広く臨床使用される降圧薬であるが、心不全や糖尿病性腎症での臓器障害の改善・進展予防など独立した作用を有しており、さらに近年では前立腺癌や子宮体癌などの癌種に対する抗腫瘍効果が報告されている。今回我々は肝細胞癌に対する telmisartan の腫瘍増殖抑制効果とその制御機構について検討した。</p> <p><b>【方法】</b> 1) 4 種類の ARB (telmisartan, valsartan, losartan, irbesartan) 0~100 <math>\mu</math>M を使用し、5 種類の HCC 細胞株 (HLE, HLF, HepG2, HuH-7, PLC/PRF/5) に対する増殖抑制効果を MTT assay で検討した。2) 細胞周期変化 (G1 期, S 期, G2/M 期) について flow cytometry で解析し、細胞周期関連蛋白の発現を western blot で調べた。3) アポトーシスに関する実験として、flow cytometry でアポトーシス誘導細胞を検出し、caspase-cleaved keratin18 (CCK18) を ELISA 法で測定した。4) アポトーシス関連分子群、レセプター型チロシンキナーゼ群、血管新生分子群について、アレイ解析を行った。5) 関連する microRNA(miRNA)を同定するため、2555 遺伝子搭載の高感度マイクロアレイチップを用いて網羅的に解析した後、realtime PCR 法で定量解析した。</p> <p><b>【結果】</b> telmisartan のみ肝細胞癌株に対して細胞増殖抑制効果を認め、他の ARB では抗腫瘍効果を認めなかった (Figure 1A)。Telmisartan は 3 種類の HCC 細胞株 (HLE, HLF, HepG2) において濃度依存性に細胞増殖抑制効果を認め、他の 2 種類では抗腫瘍効果を示さなかった (Figure 1B)。最も抗腫瘍効果のあった HLF 細胞株を用いた検討では、telmisartan 添加後 12 時間をピークとして G1 停止が持続し (Figure 2A)、細胞周期関連蛋白では CyclinD1, cdk4, cdk6 および CyclinE, cdk2 の発現の低下を認めた (Figure 2B)。さらに上流の関連経路では、AMPK <math>\alpha</math> が活性化し、mTOR/p70s6k のリン酸化が抑制されていた (Figure 3)。アポトーシスに関する検討では、アポトーシス誘導細胞の直接的な差はないものの (Figure 4A, B)、CCK-18 は経時的に蓄積効果しており (Figure 4C)、アレイ解析では Phospho-p53 (Ser392) の発現亢進および survivin の発現低下を認めた。レセプター型チロシンキナーゼでは ErbB3 の発現が有意に低下しており (Figure 5)、血管新生分子群では bFGF の発現亢進を認めた。また telmisartan 添加によって miRNA は異なるクラスターを形成し (Figure 6A)、減少した hsa-miR-7-5p と増加した hsa-miR-3651 の 2 分子が最も変化していた (Figure 6B)。</p> <p><b>【結語】</b> telmisartan は HCC 細胞株に対する抗腫瘍効果を併せ持つ薬剤と考えられ、その機序として AMPK <math>\alpha</math>/mTOR 経路を介する細胞周期関連蛋白の制御が主要な経路と考える。本研究は、今後高血圧を有する NBNC-HCC 患者にどの降圧薬を選択するかの 1 つの指針となる。</p>			

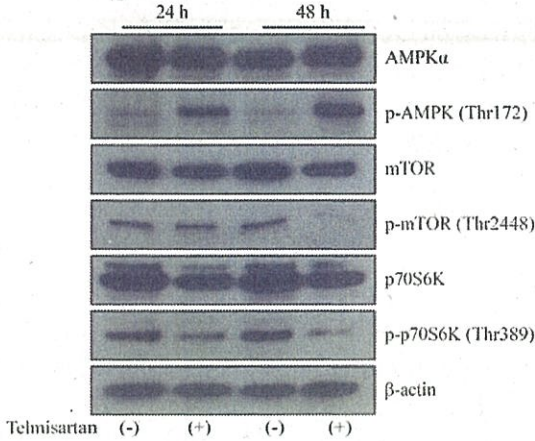
**Figure 1**



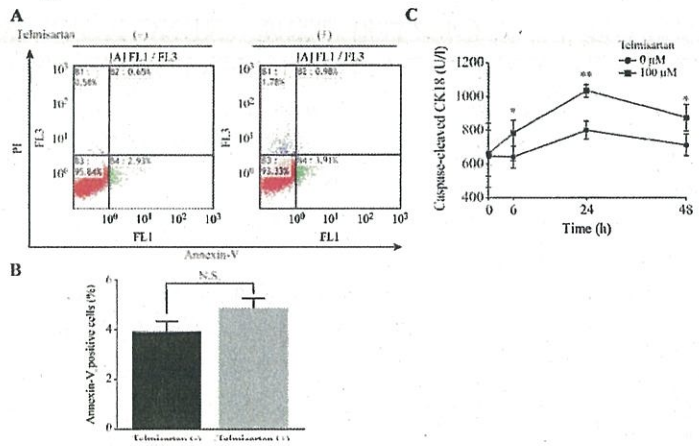
**Figure 2**



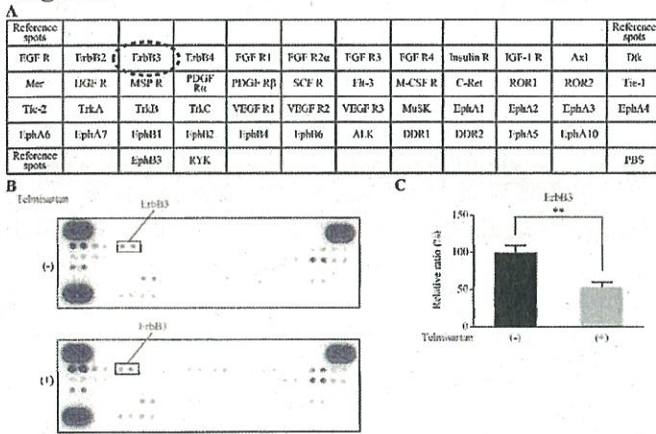
**Figure 3**



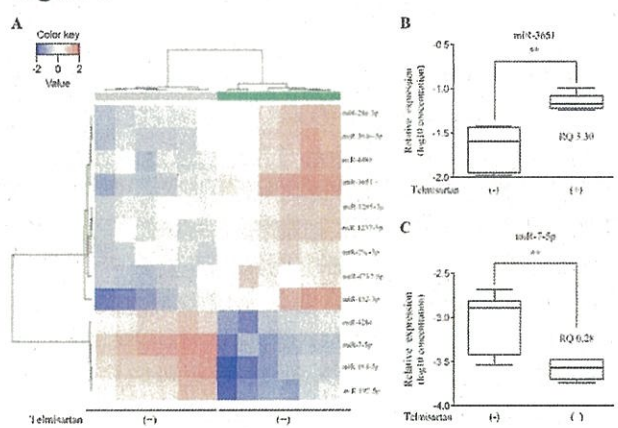
**Figure 4**



**Figure 5**



**Figure 6**



掲載誌名

Oncology Reports

第38巻, 第5号

(公表予定)  
掲載年月

2017年 11月

出版社(等)名

Spandidos Publications

Peer Review

有

無