

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	14D735	氏名	寒川 英里
論文題目	Angiotensin receptor blocker telmisartan inhibits cell proliferation and tumor growth of cholangiocarcinoma through cell cycle arrest.		

(論文要旨)

【目的】降圧剤として臨床で広く使用されているアンジオテンシンII受容体拮抗薬(ARB)の服用者に癌の発生頻度が少ないことが報告され、近年ARBの前立腺癌や子宮体癌に対する細胞増殖抑制効果も示されている。今回、我々はARBの一つであるtelmisartanを用いて胆管細胞癌に対する細胞増殖抑制効果とその抑制機序についてin vitro, in vivoの系で検討した。

【方法】In vitroの検討：胆管細胞癌細胞株としてHuCCT-1とTFK-1を使用し、種々の濃度(0~100μM)のtelmisartan投与による細胞増殖をMTT cell proliferation assayにより検討した。telmisartanが細胞周期に与える効果をflow cytometryで検討し、細胞周期関連分子の発現動態をWestern blotで解析した。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。また、telmisartanによる細胞内の血管新生分子群、レセプター型チロシンキナーゼ群への影響についてアレイチップを用いて解析した。さらに、telmisartan投与により誘導されるmicroRNAsを2555遺伝子が搭載された高感度チップを用いて網羅的に解析した。In vivoの検討：ヌードマウスにHuCCT-1を皮下移植し、telmisartan投与群と対照群に分け、腫瘍サイズを計測することでtelmisartanの効果を検討した。

【結果】In vitroの検討では、telmisartanは胆管細胞癌細胞株(HuCCT-1とTFK-1)において濃度依存性に細胞増殖の抑制効果を認めた(Figure 1)。胆管細胞癌細胞株HuCCT-1を用いた検討では、telmisartan投与により、G1期からS期への移行が抑制されG1アレストが認められ(Figure 2A)、さらに、細胞周期関連分子であるCyclinD1とそのcatalytic subunitであるCDK4、CDK6やCyclinEのcatalytic subunitであるCDK2の発現が低下した。また、これらの基質であるRbのリン酸化の低下も認め、telmisartanの胆管細胞癌細胞のG1アレストはこれらの細胞周期分子の活性低下によるものと考えられた(Figure 2C)。telmisartanの胆管細胞癌細胞に対するアポトーシスの誘導効果認めなかった(Figure 3)が、レセプター型チロシンキナーゼではEGFR活性の低下を認め(Figure 4)、血管新生分子群ではTIMP-1の発現低下を認めた(Figure 5)。さらに、telmisartan投与群は対照群と比較して異なるmiRNAsのクラスターを形成した(Figure 6)。In vivoの検討では、telmisartan投与によりヌードマウスに皮下移植した癌細胞増殖が顕著に抑制された(Figure 7)。

【結語】telmisartanが胆管細胞癌に対して細胞増殖抑制効果を持つことをin vitro, in vivoにおいて証明した。telmisartanにより複数の癌抑制miRNAsを誘導し、細胞周期のG1アレストを引き起こすことで胆管細胞癌の増殖を抑制することが示唆された。

Figure 1

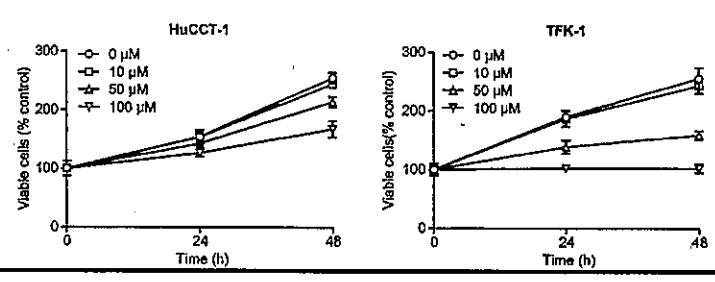


Figure 2

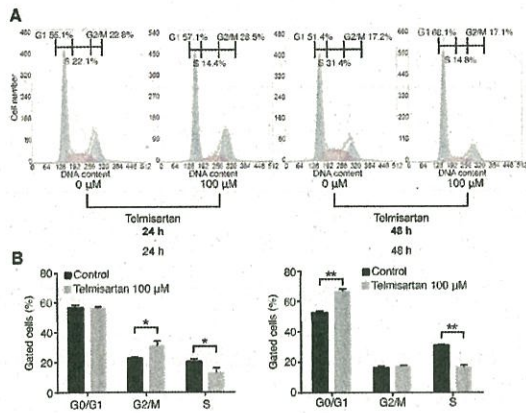


Figure 3

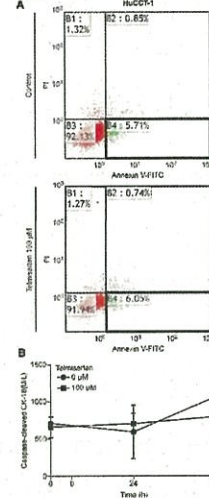


Figure 4

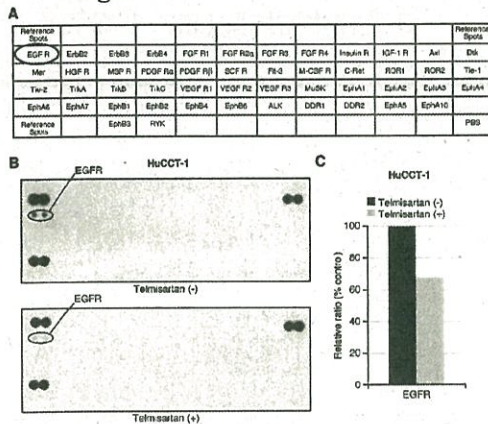


Figure 5

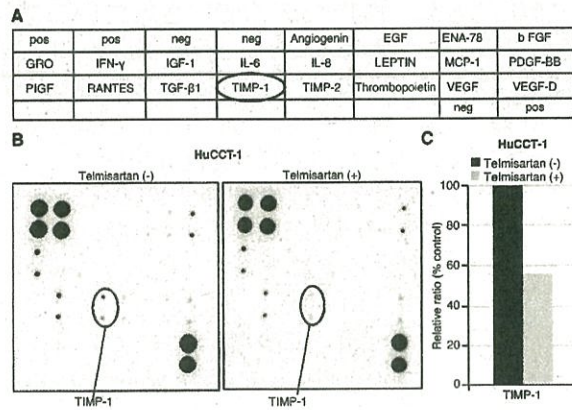


Figure 6

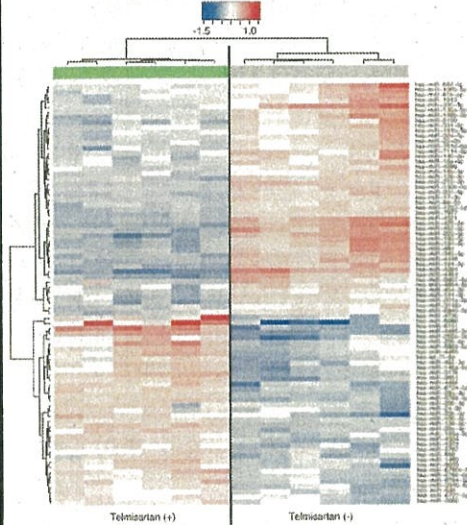
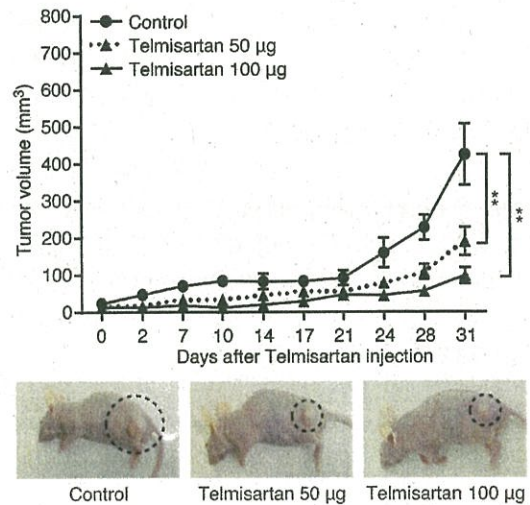


Figure 7



掲 載 誌 名

International Journal of Oncology 第51巻, 第6号

(公表予定)
掲 載 年 月

2017年 12月

出版社 (等) 名

Spandidos Publications

Peer Review

有

無