

## 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	09D743	氏名	藤森 崇行
論文題目	Antitumor effect of metformin on cholangiocarcinoma: In vitro and in vivo studies		

## 【目的】

胆管癌は胆道癌の中で最も多く、原発性肝癌においても肝細胞癌に次いで多い疾患である。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。胆管癌は黄疸以外には自覚症状に乏しく、早期発見が難しい。治療としては手術療法、全身化学療法などがあるが、診断時に既に遠隔転移を有するなど手術適応にならないことも多いのが現状である。よって、進行癌に対して、副作用の少なく効果的な抗癌剤治療の発見が未だに必要とされている。

最近、抗糖尿病薬であるMetforminが、前立腺癌、乳癌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膵臓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：胆管癌細胞株としHuCCCT-1, TFK-1を使用し、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HuCCCT-1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1000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：HuCCCT-1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、胆管癌細胞株におけるMetformin投与による細胞周期関連分子、miRNAsについても、*in vitro*の系と同様に検討した。

【結果】 1. *in vitro*の系：Metformin投与群は非投与群と比較して、2種類の胆管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、EGFRのリン酸化は低下していた (Fig. 2)。また、フローサイトメトリーにおける検討でも、Metformin投与群は胆管癌細胞株をG1停止に導いていた (Fig. 3)。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-302 familyの発現は昂進していた (Fig. 4)。

2. *in vivo*の系：Metformin投与は、胆管癌細胞の増殖を顕著に抑制し、さらにmiRNAsの動態変化も*in vitro*の系に類似していた (Fig. 5)。

【結論】 Metformin が胆管癌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が有用な胆管癌の新たな治療法となりうる可能性が示唆された。

