




学位論文審査の結果の要旨

令和 2 年 2 月 7 日

審査委員	主査	村尾 孝規 		
	副主査	上田 夏生 		
	副主査	山本 哲司 		
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	15D743	氏名	山名 浩喜
論文題目	Metformin Inhibits Proliferation and Tumor Growth of QGP-1 Pancreatic Neuroendocrine Tumor Cells by Inducing Cell Cycle Arrest and Apoptosis			
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。)	

〔要旨〕

【背景と目的】 膵神経内分泌腫瘍 (pNET) は比較的稀な疾患であり、治療法は未だ研究途上であると言える。近年、抗糖尿病薬である metformin が種々の悪性腫瘍に対して抗腫瘍効果を持つことが報告されているが、pNET に対する metformin の効果については未だ研究がなされていない。今回我々は、ヒト pNET 細胞株に対する metformin の抗腫瘍効果を検討した。

【方法】 1) metformin 0~5mM を使用し、2 種類の pNET 細胞株 (QGP-1, NCI-H727) に対する増殖抑制効果を MTT assay で検討した。2) QGP-1 の細胞周期変化 (G1 期, S 期, G2/M 期) について flow cytometry で解析した。3) 細胞周期関連蛋白の発現を western blot 法を用いて調べた。4) アポトーシス関連分子群、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。6) 計 30 匹のヌードマウスに QGP-1 (4x10⁶ 個/匹) を皮下に移植し、ランダムに Metformin 0, 1, 2mg/body の 3 群に振り分け、5 回/週にわたり計 3 週間継続投与し各群の腫瘍体積をモニタリングした。7) 核出した腫瘍組織に対して、PCNA および Cyclin D1 抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果】 2 種類の pNET 細胞株において、共に metformin は細胞増殖抑制効果を示した。より抗腫瘍効果のあった QGP-1 を用いた検討では、metformin 添加後 G1 停止が誘導され、細胞周期関連蛋白では Cyclin D1 の発現の低下を認めた。アポトーシスに関する検討では、metformin によりアポトーシスは誘導されており、アレイ解析ではアポトーシス阻害因子である survivin、claspin が抑制された。血管新生分子群では TIMP-1 の発現抑制を認めた。また metformin 添加によって miRNA は異なるクラスターを形成していた。In vivo において、metformin 投与により腫瘍組織の増殖は、有意に抑制されており、腫瘍組織に対しての免疫染色からも、組織においても G1 停止の誘導および Cyclin D1 の抑制が起こっていることが裏付けられた。

【結語】 metforminは種々の悪性腫瘍に対してと同様、pNETにおいても抗腫瘍効果を持つ薬剤であると考えられ、機序としては細胞周期関連蛋白の抑制によるG1停止の誘導、アポトーシスの誘導等によるものであると考える。本研究は、pNETの新たな治療法の一助になる可能性を示唆する。

令和2年2月6日に行われた学位審査委員会において、以下に示す質疑応答が行われた。

- 1) 研究で使用されたQGP-1細胞株はどのような細胞株か？
→ヒト由来膵NET細胞株であり、somatostatin産生性である。
- 2) in vivoにおける実験で、Metformin投与間隔は？また、その間のマウスの血糖値の推移は？
→Metformin 0, 1, 2mg/bodyの3群に振り分け、1日1回腹腔内投与した。その間に血糖値のモニタリングは行っていないが、異常な体重変化や死亡には至っておらず、重篤な副作用は生じていないものと判断する。
- 3) Metformin投与によるAMPKの変化の評価は行ったか？
→Western blot法によるAMPKの評価を行ったが、投与群と非投与群で有意な差は得られなかった。
- 4) Metformin以外の抗糖尿病薬においても、同様の抗腫瘍効果は得られるか？
→本研究以外に、DPP-4阻害剤を用いて膵癌細胞株に対してin vitroの実験を行ったが、有用な抗腫瘍効果を得られなかった。
- 5) 研究デザインとして、normal cell lineとの比較は行っているか？
→本研究においては、腫瘍細胞での評価しか行っていない。今後の研究課題としていきたい。
- 6) mTOR阻害剤との併用により抗腫瘍効果が増強するといった引用文献があるが、今回検討はなされたか？
→本研究においては行っていない。引用文献ではretrospectiveな検討であり、今後の展望として、当院でもprospectiveな検討を行いたい。
- 7) 臨床的にはどのような応用が可能か？
→Metformin単剤での抗腫瘍効果では病勢のコントロールには不十分と思われる。上記の如くmTOR阻害剤との併用が有用ではないかと考え、今後の研究を進めていく。

令和2年2月6日に開催された学位論文公開審査会において、口頭発表の後、指定討論者及び審査委員による質疑応答が実施され、上記の例のような質問に対して適切な回答が得られた。従って、審査員一同は一致して本論文が学位授与に値すると判断した。尚、本論文は既に受理され発行されている。

掲載誌名	Anticancer Research			第 40 巻, 第 1 号
(公表予定) 掲載年月	2019年12月 (掲載受理)	出版社(等)名	International Institute of Anticancer Research	

(備考) 要旨は、1, 500字以内にまとめてください。