

学位論文審査の結果の要旨

令和 3 年 2 月 10 日

審査委員	主査	辻 晃 仁		
	副主査	舩 形 尚		
	副主査	上 野 正 樹		
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	14D747	氏名	山名 佳美
論 文 題 目	MicroRNA profiles following telmisartan Treatment in pancreatic ductal adenocarcinoma cells			
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。)			
<p>〔 要 旨 〕</p> <p>【背景と目的】膵癌は症状に乏しく早期診断が困難であり、唯一の根治的治療である外科的切除の適応とならないことが多く、その他の効果的な治療法も少ない。telmisartan は降圧薬として広く臨床使用されている。angiotensin II type1 受容体拮抗薬 (ARB) であり、近年乳癌、子宮体癌、前立腺癌などの癌腫に対する抗腫瘍効果が報告されているが、膵癌に対する効果についてはあまり研究がされていない。今回我々は、膵管癌細胞株における telmisartan の抗腫瘍効果やその制御機構について検討した。</p> <p>【方法】1) 4 種類の ARB (telmisartan, irbesartan, losartan, valsartan) 0~100 μM を使用し、2 種類の膵管癌細胞株 (PK-1, PANC-1) に対する増殖抑制効果を Cell counting Kit 8 で検討した。2) 細胞増殖抑制効果を示した telmisartan 投与による細胞浸潤能および遊走能の変化を調べるために、PK-1 に対する Cytoselect 96 well cell invasion/migration assay を行った。3) PK-1 と PANC-1 の細胞周期変化 (G0/G1 期, S 期, G2/M 期) について flow cytometry で解析した。4) 細胞周期関連蛋白の発現を western blot 法を用いて調べた。5) 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。6) 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。</p> <p>【結果】4 種類の ARB のうち、telmisartan は濃度依存性に PK-1 と PANC-1 両株の細胞増殖抑制効果を示した (Figure1)。最も効果の強かった PK-1 において、telmisartan 投与により細胞浸潤能および遊走能は有意な変化を示した (Figure2a, b)。flow cytometry では PK-1 と PANC-1 において telmisartan 投与により G0/G1 停止に導き (Figure3a, b)、細胞周期蛋白では cyclinD1, Cdk4, Cdk6 の発現低下を認めた (Figure4)。また、アレイ解析ではレセプター型チロシンキナーゼ群では EGFR の発現が低下していたが (Figure5a, b)、血管新生分子群では蛋白発現に変化は見られなかった (Figure6)。さらに、telmisartan 投与によって miRNA は明確に異なるクラスターを形成していた (Figure7)。</p> <p>【結語】telmisartan は種々の悪性腫瘍に対してと同様、膵管癌においても抗腫瘍効果を持つ薬剤であると考えられた。その機序としては、細胞周期関連蛋白の抑制による G0/G1 停止の誘導による細胞増殖抑制作用であると考えられる。本研究は、膵癌の予後改善の一助になる可能性を示唆する。</p>				

令和3年2月10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) ARBの中でもtelmisartanが効果的である理由、他のARBとの違いは？

→telmisartanは側鎖にベンズイミダゾール環を持っており、他のARBよりPPAR γ のリガンド作用やAMPKの活性化作用が強いため、効果に差があるのではないかと考える。

2) 他のARBには抗腫瘍効果はないのか？

→当教室で行った消化器癌においては全てtelmisartanのみ細胞増殖抑制効果を認めたという結果になったが、他施設ではcandesartan等の他のARBで細胞増殖抑制効果を認め、抗腫瘍効果を報告している。

2) 薬剤の濃度はヒトに投与した時と比べてどうなのか？

→in vitroでの10~100 μ Mはヒトに投与した際の有効血中濃度の数十倍と非常に高濃度になっているが、in vivoでの50,100 μ gは降圧薬としてヒトに投与している最大量の2倍程度となっており、臨床的に使用可能な濃度にかかなり近づいている。さらに、実臨床においては抗癌剤との併用になるため、さらに減量し常用量での使用も可能ではないかと考えている。まずは25 μ gでの実験を行いたい。

3) EGFRの経路とmTOR阻害の経路とどちらの経路の関与が強いと思うか？

→膵癌は90%にK-ras変異があるため、rasが関与するEGFR経路を実際には阻害できていない可能性があり、推測だがAMPK/mTOR経路が強い可能性を考えている。

4) なぜ高齢者の膵癌が増えているのか？

→糖尿病や肥満といった生活習慣病が膵癌のリスクファクターの1つであるため、生活習慣病の増加とともに増えている可能性がある。さらに、画像診断能の発達とともに検出率自体が上がってきていることも関係していると考えられる。

5) プロレニンとPKの関連は？今回はどうだったのか？

→今回の研究では検討できていない。今後の研究課題としたい。

6) Vivoでの投与方法は？血圧への影響は？

→腹腔内投与。左室圧を測定し10mmHg程度の血圧低下を認めたという報告もあったが、今回は手技的な問題もあり測定できていない。実験中に体重減少をきたしたり死亡したマウスはいなかったことから、重篤な有害事象は起こっていないと考えている。

7) 他の癌腫と抗腫瘍効果のメカニズムは異なるのか？

→当研究室で行った中では、食道腺癌と肝細胞癌は膵癌同様AMPK活性化が抗腫瘍効果を引き起こしていると思われたが、肝内胆管癌ではAMPK活性化は認めなかった。他施設の研究では受容体を介する経路やPPAR γ の経路を機序として報告しているものもあり、やはり癌腫の多様性により、癌腫によってメカニズムは異なるようである。

8) ARBを使用している人にPKが少ないといった臨床のビッグデータはあるのか？

→ARB使用者に癌の発生や死亡率が少ないという報告はあり、anti-cancer drugであることは間違いないと考えている。PKに関してARB使用で癌の予後が改善したという報告はあったが、発生に関しての報告は見当たらなかった。

10) miRNAは臨床応用できそうか？

→miRNAとmRNAは多数対多数の対応をしており、非常に複雑で慎重な基礎研究の積み重ねが必要であると考える。しかし、発現調節を介した癌の治療方法の開発やバイオマーカーとしての可能性は将来的に十分あると考えている。

10) 膵癌は高率にK-Ras変異があるため、EGFR以外に抑制している箇所があるのではないかと助言いただいた。

11) AMPK/mTOR系が機序と考えているようだが、実臨床においてmTOR阻害剤は膵癌などの消化器癌には効きにくい。しかしtelmisartanには効果があるので、今回調べた経路以外にどこか効いている箇所があるのではないかと助言いただいた。

令和3年2月10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。

掲載誌名	Journal of Cancer Research and Therapeutics		
(公表予定) 掲載年月	2020年 12月	出版社(等)名	Medknow Publications

(備考) 要旨は、1,500字以内にまとめてください。