

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 吉 田 寿 一 郎

主論文 1 編

Metformin inhibits TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and liver metastasis of pancreatic cancer cells.

Oncology Reports 44;371-381, 2020

審査結果の要旨

膵癌は予後の悪い癌腫の一つであり、2型糖尿病は膵癌のリスクとなる。一方で2型糖尿病治療薬の一つであるメトホルミンは様々な機序を介しての抗腫瘍効果が報告されている。癌の浸潤転移に epithelial-mesenchymal transition (EMT) がかわるとされ、メトホルミンが EMT を阻害することは複数の癌腫で示されているが、膵癌での報告はない。

申請者は膵癌細胞におけるメトホルミンの EMT 抑制効果、転移抑制効果を検証した。ヒト膵癌細胞株 (PANC-1, MiaPaCa-2, BxPC-3) を用いて EMT の誘導実験を行った。EMT は TGF- β 1 (10ng/ml) により刺激を行い誘導し、メトホルミンは TGF- β 1 刺激前より 10mM で添加し検討を行った。細胞形態の変化、wound healing assay 法を用いて EMT の表現型を評価し、ウエスタンブロット法、RT-PCR 法、蛍光免疫染色法を用いて EMT 関連分子の発現を評価した。また膵癌移植による膵癌転移モデルマウスを用いて転移抑制効果を評価した。6-8 週齢雌性 C57BL/6 マウスを用い、まずマウス両側腹部皮下にマウス膵癌細胞株 (Panc02) を注入し、3 週間後に生着した皮下腫瘍の組織片を別個体 30 匹のマウスの膵尾部に移植した。移植したマウスはコントロール群とメトホルミン投与群に分け、前者は生理食塩水を、後者はメトホルミン 125 mg/kg を連日腹腔内投与した。28 日後に解剖を行い、原発巣の大きさや重量、肝転移・肺転移個数、原発巣 (膵癌移植病巣) の EMT 関連分子について評価した。

TGF- β 1 刺激にて膵癌細胞の紡錘形変化が観察され、メトホルミン追加では紡錘形変化がキャンセルされた。また wound healing assay 法では、TGF- β 1 刺激で運動能亢進がみられ、メトホルミン添加にて運動能亢進は抑制された。上皮系マーカーである E-cadherin は TGF- β 1 刺激にて発現が减弱しメトホルミン投与で増強した。間葉系マーカーである Vimentin, Snail, α -SMA は TGF- β 1 刺激にて発現が増強しメトホルミン投与で减弱した。PANC-1 cell は TGF- β 1 刺激にて smad2/3 のリン酸化が引き起こされたが、メトホルミンはリン酸化を抑制し、BxPC-3 cell では TGF- β 1 刺激にて Akt や mTOR のリン酸化が引き起こされたが、メトホルミン投与でリン酸化は抑制されたことから、TGF- β 1 誘導 EMT を引き起こす経路や、メトホルミンが阻害する経路は、smad2/3 を介する経路や Akt/mTOR を介する経路が関与し、細胞により機序が異なることが示唆された。

膵癌転移モデルマウスでは、解剖時に原発巣の大きさや重量について差を認めず、肺転移をきたした個体数についても差を認めなかったが、肝転移をきたした個体数についてはメトホルミン投与群で有意に少なかった。また膵尾部腫瘍組織の蛋白質発現解析において E-cadherin はメトホルミン投与群で発現が強く、Vimentin はメトホルミン投与群で発現が弱いことが確認された。以上からメトホルミンは膵癌において EMT を阻害することによって肝転移形成を抑制することが示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、メトホルミンが膵癌肝転移を抑制し、その機序として EMT を阻害することを明らかにした点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 2 年 9 月 17 日

審査委員 教授 高山 浩一 ㊞

審査委員 教授 田中 秀央 ㊞

審査委員 教授 黒田 純也 ㊞