

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(加藤 春雄) 印

Metformin inhibits the proliferation of human prostate cancer PC-3 cells via the downregulation of insulin-like growth factor 1 receptor.

(メトフォルミンはインスリン様成長因子1受容体の発現低下を介してヒト前立腺癌PC-3細胞の増殖を抑制する)

メトフォルミンは2型糖尿病において広く使用されているビグアナイド系治療薬であり、AMP kinase pathwayの活性化を介して肝臓における糖新生を阻害することで血糖降下作用を有する。近年、前立腺癌細胞を含む種々の癌細胞においてメトフォルミンの抗腫瘍効果が報告されている。その機序としては1) LKB1を介したAMPK pathwayの活性化によるmTOR pathwayの抑制、2) インスリン、IGF-Iレベルの低下、3) cyclin D1レベルの低下などが考えられているが、前立腺癌における抗腫瘍効果の機序はいまだ不明瞭な点も多い。IGF-1Rの活性化は前立腺癌細胞の増殖に重要であり、IGF-1Rの発現増加がPSAの上昇や高グリソンスコアと関連することが報告されている。今回、我々はIGF-1Rを介したシグナル伝達に注目し、メトフォルミン投与による変化についてin vitro及びin vivoにて検討を行った。

まずヒト前立腺癌細胞PC-3、LNCaP、LNCaP-LA(去勢抵抗性前立腺癌モデルとして3か月間チャコール処理したFBS下に培養したLNCaPから作成したもの)においてメトフォルミン投与による細胞増殖能の変化をMTS assay及びcell countingにて検討したところ、いずれにおいてもメトフォルミン投与により有意に細胞増殖能が抑制された。さらにPC-3細胞において、細胞遊走能及び浸潤能に対する効果をそれぞれWound healing assay、Matrigelを用いたInvasion assayにて検討したところ、メトフォルミン投与によりいずれも有意に抑制された。続いてPC-3細胞においてメトフォルミン投与によるIGF-1Rの発現の変化をreal-time定量的PCR及びWestern blottingにて検討したところ、mRNA発現、蛋白発現ともにメトフォルミン投与により有意に抑制された。LNCaP及びLNCaP-LAにおいてもIGF-1Rの蛋白発現は抑制された。また、IGF-1付加により促進されるMAPK(ERK1/2)及びAktのリン酸化がメトフォルミン投与を投与することで有意に抑制されることをWestern blottingにて確認した。これらの結果はメトフォルミンがIGF-1Rの発現低下を介して細胞増殖に重要なIGF-1/IGF-1Rシグナル伝達経路を抑制することを示している。

PC-3細胞においてsiRNAを用いてIGF-1Rをノックダウンさせると、細胞増殖能・遊走能・浸潤能いずれも有意に抑制された。コントロール細胞においてはメトフォルミン投与によりIGF-1Rをノックダウンさせるのと同等の増殖抑制効果を示したが、IGF-1Rをノックダウンさせた細胞においては、メトフォルミン投与の有無で有意差は認めなかった。この結果はIGF-1Rの発現低下がメトフォルミンによる抗腫瘍効果として重要であることを示唆している。

さらにPC-3細胞をマウスに移植したXenograftモデルを作成し、メトフォルミンの抗腫瘍効果を検討した結果、メトフォルミンを250 mg/kg連日腹腔内投与した群において、PBSのみ投与した群と比較して4週間投与した時点で腫瘍増殖が有意に抑制され、IGF-1RのmRNA発現量も有意な低下を認めた。

以上より、メトフォルミンによる抗腫瘍効果の機序としてIGF-1Rの発現低下を介したIGF-1/IGF-1Rシグナル伝達の抑制が重要であることが示唆された。本研究はアンドロゲン非依存性前立腺癌細胞PC-3においてin vivoでもIGF-1Rの発現低下及び腫瘍増殖抑制が認められることを報告した初めての研究であり、メトフォルミンが去勢抵抗性前立腺癌の治療薬となり得ることを示した点で意義深いものと考えられる。