K3-4-3 メトホルミンは間接的に子宮内膜癌患者の増殖を抑制する

千葉大

三橋 暁, 植原貴史, 碓井宏和, 楯 真一, 山本憲子, 錦見恭子, 生水真紀夫

【目的】メトホルミン (Met) の癌増殖抑制効果は, in vitro で報告されているが, in vivo での報告は少ない。今回, われわれは糖尿病治療量の Met が, 子宮内膜癌患者に対し増殖抑制効果を示すかどうか検討した。【方法】倫理委員会の承認のもと, 同意の得られた子宮内膜癌患者 23 例 (高・中分化型類内膜腺癌) の術前に, Met 750-2250mg/日投与し, 治療前後の組織, 血清を採取した。1) Met 治療前後の細胞周期蛋白・MAPK・AMPK-mTOR 経路関連タンパクを Western Blotting 法で, 細胞増殖活性を免疫組織染色法で比較。2) Met 服用前後の血中, 組織中の Met 濃度を, 質量分析器で測定。3) Met 治療による内分泌因子の変化を比較。4) 子宮体癌由来株 (Ishikawa 株) を Met 治療前後の患者血清入培地 (2%) で培養し, thymidine incorporate assay で増殖活性を比較した。【成績】1) Met 治療後, 腫瘍組織の ki-67 および topoisomerase II α labeling index は有意に減少, 細胞増殖活性が低下した。リン酸化 ERK 1/2 発現低下・cyclin D1 発現低下・p27 発現亢進を認め, MAPK 経路が抑制されていた。さらに AMPK 活性化・S6K1 活性低下から, mTOR 経路の抑制も認めた。2) Met750mg 投与後 2 時間時の血中濃度, 組織内濃度は, それぞれ 20 μ mol/L, 12 μ mol/Kg で, in vitro では細胞増殖抑制効果の得られない濃度であった。3) Met 治療前後で, HOMA-R・IGF-1 が有意に低下した。4) Met 治療後の血清は, 治療前の血清と比較して有意に増殖活性が低下していた。【結論】糖尿病治療量の Met は, 直接作用ではなく, 間接的に子宮内膜癌の増殖を抑制することが示された。

K3-4-4 ターメリック・ウコン中の有効成分クルクミンによる子宮平滑筋肉腫細胞増殖抑制効果～オートファジーおよびアポトーシス誘導からの検討～東北大東北メディカル・メガバンク機構地域医療支援部門¹, 近畿大東洋医学研究所女性医学部門², 東北大³, 東北大周産期医療人材養成講座⁴李 寶¹, 武田 卓², 築地謙治⁴, 黄 志芳³, 北村真理³, 近藤亜希子³, 八重樫伸生³

【目的】子宮平滑筋肉腫は標準的化学療法が奏功せず, 遠隔転移が多発する極めて予後不良の腫瘍である。一方, 生薬ウコン中の有効成分であるクルクミンは種々の癌細胞増殖を抑制する報告があり, 癌治療への応用で注目を集めている。我々は, これまでにクルクミンが AKT-mTOR 経路抑制を介し, 子宮肉腫細胞増殖抑制およびアポトーシス誘導に作用することを証明してきた。また, 細胞の自食作用であるオートファジーがアポトーシスと異なる新たな腫瘍細胞増殖抑制メカニズムとして近年注目されている。今回はクルクミンによる子宮平滑筋肉腫細胞に対するオートファジー誘導について検討した。【方法】子宮平滑筋肉腫細胞株 SKN を用いて実験を行った。mTOR 特異的阻害薬のラパマイシンまたはクルクミンによる細胞増殖への影響を MTS アッセイで検討した。ERK1/2 リン酸化とオートファジーマーカーである LC3 発現をウエスタンブロット法 (WB 法) で検討した。また, Cleaved PARP 抗体による WB 法によりアポトーシスを検討した。【成績】クルクミンとラパマイシンは濃度依存的に細胞増殖を抑制した。ラパマイシンがオートファジーとアポトーシスを誘導しなかったのに対し, クルクミンはオートファジーとアポトーシスを共に誘導した。また, クルクミンはオートファジー活性化と関連のある ERK1/2 のリン酸化を増加させた。【結論】SKN 細胞において, クルクミンはラパマイシンと異なりオートファジーとアポトーシスの両者を誘導して細胞増殖を抑制した。また, クルクミンは SKN 細胞の ERK1/2 経路活性化を介しオートファジーを誘導した。クルクミンのラパマイシンに対する優位性が考えられ, 子宮平滑筋肉腫治療への応用が期待される。

K3-4-5 Annexin A4 の発現は銅のトランスポーターでありプラチナの排出に関与すると知られる ATP7A を介して, 耐性獲得に関与する大阪大¹, 新潟大², 医薬基盤研究所免疫シグナル³松崎慎哉¹, 森本晶子¹, 横山拓平¹, 小林栄仁¹, 木村敏啓¹, 上田 豊¹, 吉野 潔¹, 藤田征巳¹, 榎本隆之², 木村 正¹, 仲 哲治³

【目的】我々は卵巣明細胞腺癌において Annexin A4 (Anx A4) が特異的に発現し, プラチナ (Pt) 系薬剤排出を促進し, Pt 耐性へ関与することを報告した。当研究はその機序解明を目的とした。【方法】Anx A4 が弱陽性である子宮内膜癌細胞 HEC 1 を用いた。Anx A4 cDNA を遺伝子導入し, 安定株 HEC1-A4 株を樹立, Cisplatin の IC50 (50% 阻害濃度) と細胞内の Pt 濃度, ノードマウスを用いた in vivo での腫瘍増殖抑制率を評価した。機序としては ATP7A に着目し, 細胞を Biotin 標識した後の Western Blotting (WB) 法, 細胞染色及び siRNA を用いた解析を行った。【成績】Anx A4 の強制発現により, Cisplatin の IC50 は 8.4 μ M から 34.9 μ M へ上昇した。In vivo における Cisplatin 投与では HEC1 コントロール株は 55% に対し, HEC1-A4 株では 5% と有意に腫瘍増殖抑制率が低かった。Cisplatin 暴露後の細胞内 Pt 濃度はコントロール株では 0.34pg/cell に対し, HEC1-A4 株では 0.09pg/cell へ低下し, Pt 排出の促進が Pt 耐性の原因と考えられた。細胞二重染色法を行ったところ, Cisplatin 暴露後 Anx A4 と ATP7A は共に細胞質から細胞膜へと局在を変え, 共局在していた。これらの結果は Biotin 標識を用いた WB 法によっても裏付けられた。また, Anx A4 により誘導された Cisplatin 耐性は siRNA を用いた ATP 7A のノックダウンにより Cisplatin の IC50 は 34.9 μ M から 11.0 μ M へコントロール株と同等の感受性にまで改善した。以上より, Anx A4 と ATP7A の細胞膜での共局在や機能における関連を示すことに成功した。【結論】Anx A4 は ATP7A の働きを促進し, Pt 耐性を獲得していることを初めて示した。