

京都大学	博士（医学）	氏名	小原章央
論文題目	DEPTOR-related mTOR suppression is involved in metformin's anti-cancer action in human liver cancer cells (DEPTOR 依存性の mTOR 抑制機構は、メトホルミンのヒト肝癌細胞における抗癌作用に關与する)		
(論文内容の要旨) メトホルミンは 2 型糖尿病に対し広く用いられている薬剤であるが、近年、抗癌作用を有することが注目されている。乳癌や前立腺癌細胞では AMP kinase(AMPK)を介して mTOR を制御し細胞増殖を抑制することが報告されている。メトホルミンによる癌発症リスク減少効果が最も高い臓器は肝臓であることが臨床研究で報告されているが、メトホルミンの肝癌に対する作用について詳細な機序は未だ明らかではない。本研究では、メトホルミンのヒト肝癌細胞における mTOR 抑制機構の役割を明らかにし、細胞増殖抑制効果への関与を調べた。ヒト肝癌細胞株である HepG2 及び HuH-7 にメトホルミンを曝露したところ、これら細胞の増殖が有意に抑制された。同条件下で mTOR の下流の 1 つである p70-S6 kinase(p70S6K)のリン酸化(Thr389)、および ribosome protein S6(rpS6)のリン酸化(Ser240/244)が抑制されることをウエスタンブロット法にて確認した。メトホルミンによる mTOR 抑制メカニズムとして報告がある TSC2 リン酸化や raptor リン酸化は、HepG2 及び HuH-7 細胞では認められなかった。また、HepG2 細胞において TSC2 をノックダウンしたが、メトホルミンによる細胞増殖抑制効果は消失しなかった。このことから、メトホルミンのヒト肝癌細胞における mTOR 抑制機構には、TSC2 及び raptor を介さない別の機序の関与が考えられた。 そこで近年、mTOR 抑制蛋白として同定された DEPTOR に着目した。DEPTOR は mTOR 複合体に結合することで mTOR を抑制的に制御する。HepG2、HuH-7 細胞にメトホルミンを曝露し、DEPTOR 蛋白量を測定したところ、DEPTOR 蛋白量は増加した。DEPTOR はプロテアソーム系で分解され、その蛋白量が制御されていることから、これら細胞にメトホルミンを曝露しプロテアソーム活性を測定したところ、プロテアソーム活性が有意に抑制された。メトホルミン曝露によって DEPTOR mRNA の発現は増加しなかった。このことから、メトホルミンはヒト肝癌細胞において、プロテアソーム活性を抑制することで DEPTOR 分解を抑制し、蛋白量を増加させることが示された。DEPTOR がメトホルミンのヒト肝癌細胞における mTOR 抑制機構に關与しているかどうかを検討するため、HepG2 細胞で DEPTOR をノックダウンしたところ、メトホルミンによる p70S6K 及び rpS6 リン酸化抑制効果が消失し、細胞増殖抑制効果は消失した。このことから、メトホルミンはヒト肝癌細胞において、DEPTOR 依存性に mTOR を抑制し細胞増殖を抑制することが示された。 また、AMPK がメトホルミンのヒト肝癌細胞における mTOR 抑制機構に關与しているかどうかを検討するため、HepG2 細胞で AMPK α 1 をノックダウンしたところ、メトホルミンによるプロテアソーム活性抑制効果は消失し、DEPTOR 蛋白量の増加も認められなかった。また、p70S6K 及び rpS6 リン酸化抑制効果が消失し、細胞増殖抑制効果は消失した。このことから、メトホルミンがヒト肝癌細胞において AMPK 依存性にプロテアソーム活性を制御し、DEPTOR 蛋白量を増加させることが示された。 以上の結果より、ヒト肝癌細胞においてメトホルミンは、DEPTOR 依存性に mTOR を抑制し細胞増殖を抑制することを明らかにした。DEPTOR 依存性の mTOR 抑制機構は新たな抗癌治療の標的となる可能性が示唆された。			

(論文審査の結果の要旨)

メトホルミンは 2 型糖尿病の治療薬として広く用いられている薬剤であるが、近年、抗癌作用を有することが注目されている。メトホルミンによる癌発症リスク減少効果が最も高い臓器は肝臓であることが臨床研究で報告されているが、メトホルミンの肝癌に対する作用について詳細な機序は未だ明らかではない。本研究の申請者は、メトホルミンのヒト肝癌細胞における mTOR 抑制機構の役割を明らかにし、細胞増殖抑制効果への関与を検討した。

申請者は mTOR 抑制蛋白である DEPTOR に着目し、メトホルミンによる細胞増殖抑制効果への関与を調べた。メトホルミンはヒト肝癌細胞において、プロテアソーム活性を抑制することにより DEPTOR 蛋白量を増加させることを示した。メトホルミンによる mTOR シグナル抑制機序および細胞増殖抑制効果は DEPTOR 依存性であることを明らかにした。さらに、メトホルミンは AMPK 依存性にプロテアソーム活性を抑制し、DEPTOR 蛋白を増加させ mTOR シグナル抑制効果を発揮することを示した。これらより、メトホルミンは AMPK-DEPTOR-mTOR 経路を介して細胞増殖抑制効果を発揮することを明らかにした。

以上の研究はメトホルミンの抗癌作用に關与する新規機序の解明に貢献し新たな抗癌治療の開発に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 6 月 29 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降