

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790714

研究課題名(和文)メトホルミンによる大腸化学発癌予防の検討

研究課題名(英文)Chemopreventive effects of metformin for colon carcinogenesis

研究代表者

細野 邦広 (Hosono, Kunihiro)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号：50537339

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：大腸癌は日本でも生活習慣の欧米化により増加してきており、今後有効な予防法の確立が求められている。大腸癌発生の危険因子として内臓脂肪型肥満を背景としたメタボリック症候群との関連が報告されており、これらは化学予防のターゲットとして注目される。インスリン抵抗性改善薬のメトホルミンは薬理作用としてAMPK活性化作用があり、その薬理作用に注目し動物実験および臨床試験で化学発癌予防の効果を検討した。メトホルミンは大腸癌のマウス化学発癌モデルにおいてACF・ポリープ抑制効果を示し、またヒトACFの抑制効果を認めたことから、大腸発癌予防に有効であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We prospectively randomized nondiabetic patients with ACF to treatment with metformin or no treatment. The metformin group had a significant decrease in the mean number of ACF per patient, whereas the mean ACF number did not change significantly in the control group. We examined the potential direct effects of metformin on ACF via PCNA immunostaining for colorectal cell proliferative activity and TUNEL for apoptosis. The PCNA index decreased significantly following metformin treatment, although the apoptotic index did not change significantly. These data suggest that metformin effects in suppressing cell proliferation mediate suppressive effects on ACF formation. This first reported trial of metformin for inhibiting colorectal carcinogenesis in humans provides preliminary evidence that metformin suppresses colonic epithelial proliferation and rectal ACF formation in humans.

研究分野：消化器内科学

科研費の分科・細目：大腸癌

キーワード：メトホルミン 大腸癌 化学予防

1. 研究開始当初の背景

大腸癌は定期健診や内視鏡検査の普及により早期発見の機会も増えているが死亡率は依然として高く、何らかの対策が必要である。すでに循環器、神経内科領域では疾病予防の取り組みとして生活習慣の変容のほか、心筋梗塞、脳梗塞のハイリスク群にはアスピリンなどの薬剤を用いて積極的に予防を行っているが今後、癌診療においても薬剤を用いた予防を講ずることが求められている。現在欧米を中心に、経口薬を内服することで癌を積極的に予防しようとする試みが行われており、化学予防と呼ばれている。大腸癌のリスクファクターとしては肥満、糖尿病などの生活習慣病因子が考えられており、これらは化学予防のターゲットとして注目される。実際に米国では COX-2 をターゲットとして臨床試験が行われたが、副作用等の問題から試験を中断せざるを得なかった。その後このようなアプローチを実現するために様々な取り組みがなされてきたが、有効性を示すことはできなかった。これまでに研究代表者らはアディポネクチンが AMP activated kinase (AMPK) を介し大腸癌に対し抑制的に働くことを細胞、マウスモデルを用いて解明してきた。さらに抗糖尿病薬として臨床応用されているメトホルミンは薬理作用として AMPK 活性化作用があり、その薬理作用に注目し動物実験および臨床試験で化学発癌予防の効果を世界で初めて実証し、これらの研究成果は米国癌学会 (American Association for Cancer Research : AACR) 発刊の癌予防の領域では最もインパクトファクターの高い掲載誌 Cancer Prevention Research の表紙でも取り上げられている。我々の AMPK をターゲットにした大腸癌化学予防の研究は、世界でも先駆的であり、当該分野において新たな展開をもたらすものと期待されている。

2. 研究の目的

メトホルミンは薬理作用として AMPK 活性化作用がある。AMPK は肝臓での糖新生の抑制や脂肪酸の酸化亢進、細胞増殖の抑制などさまざまなエネルギー代謝を制御している。我々はすでにマウス化学発癌モデルでの実験でメトホルミン投与によって大腸癌の前癌病変である aberrant crypt foci (ACF) とポリプ形成の抑制効果を確認し、その分子機構として大腸粘膜の蛋白解析によりメトホルミン投与群で AMPK の活性化と下流の mTOR 経路の抑制を認め、免疫染色法により細胞増殖能を示す BrdU の取り込みが抑制されていることを突き止めている。さらに ACF を指標としたヒト臨床試験でも 1 ヶ月間のメトホルミン投与により ACF の減少効果を確認している。今回の研究ではこれらの知見をもと

にメトホルミンを用いた新たな臨床試験を計画している。すなわち、メトホルミン投与による大腸腺腫の縮小効果や再発予防効果を検討する。さらに分子メカニズムを解明するため、メトホルミン投与による大腸正常粘膜組織における遺伝子発現解析やタンパク質解析を行う。具体的には cyclin D1, c-myc など mTOR 下流の遺伝子や AMPK, mTOR, S6K, S6P などの蛋白解析を検討している。また、大腸腺腫組織の病理学的、マクロ的、分子学的変化、蛋白発現などを免疫染色法などを用いて明らかにしていく。特に重要なことはメトホルミンが大腸腺腫患者に対して縮小効果があるのか、効果がないのかを検証することであり、これら臨床パイロット試験の知見をふまえ、大腸腺腫切除後のクリーンコロン患者を対象とした前向き、無作為、プラセボコントロール試験を計画している。

3. 研究の方法

臨床パイロット試験により正常大腸、大腸腺腫、大腸癌という発癌過程においてメトホルミンがどのような患者を対象にどのような時期に投与していけばよいか検証する。1 つは大腸腺腫切除後の患者を対象とした臨床試験で、メトホルミンによる大腸腺腫の再発予防効果を検証する。またその分子メカニズムを解明するためメトホルミン投与による大腸正常粘膜組織における遺伝子発現解析や蛋白解析や、投与前後の糖・脂質代謝への影響を検討する。2 つ目は大腸腺腫患者を対象とし、メトホルミンによる大腸腺腫縮小効果を検証する。大腸腺腫組織の病理学的、分子学的変化、蛋白発現変化などを免疫染色法を用いて解析する。最終的にこれら臨床パイロット試験の知見をふまえ、大腸腺腫切除後の患者を対象とした二重盲見無作為比較試験を計画している。ここではメトホルミンの大腸腺腫に対する再発抑制作用と安全性を検討し、新たな大腸癌化学予防薬の実現化を目指す。

4. 研究成果

我々はマウス化学発癌モデルの実験で、メトホルミン投与により大腸正常粘膜において細胞増殖能が抑制され、AMPK の活性化と下流の mTOR, S6K, S6P 経路の抑制を確認している。これらの結果は、メトホルミンの作用機序はメトホルミン投与により AMPK が活性化され、その下流の mTOR 経路が抑制され細胞増殖が抑制されたことが示唆される。また、AMPK の上流の LKB-1 の発現は大腸ポリプより大腸正常粘膜で有意に高いことを確認しており、メトホルミンの作用機序を考えると、メトホルミンによる化学予防効果はポリプそのものより大腸上皮の方が効果が高いことが推測される。すなわちメトホルミンの

化学予防効果はポリープの縮小・消失効果よりも正常大腸粘膜からのポリープ再発抑制効果の方が高い可能性がある。

上記の臨床パイロット試験の知見をもとに、大腸腺腫切除後の患者を対象とした二重盲見化無作為比較試験を行った。ここではメトホルミンの大腸腺腫に対する再発抑制作用と安全性を検討した。メトホルミン 250mg (プラセボ群あり) を 1 日 1 回経口摂取し、1 年後のポリープ再発率を評価しメトホルミンの有効性を確認した。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 13 件)

Takahashi H, Hosono K, Endo H, Nakajima A. Colon epithelial proliferation and carcinogenesis in diet-induced obesity. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28:41-7. doi: 10.1111/jgh.12240. 査読有

Watanabe S, Sato T, Hosono K, Kobayashi N, Endo I, Nakayama T, Inayama Y, Nakajima A, Kubota K. Diagnosis of biliary cystadenoma by peroral video cholangioscopy. *Endoscopy.* 2013;45:E284-5. doi: 10.1055/s-0033-1344416. 査読有

Watanabe S, Sato T, Kato S, Hosono K, Kobayashi N, Nakajima A, Kubota K. Positioning of nasobiliary tube using magnet-loaded catheters. *Endoscopy.* 2013 ;45:835-7. doi: 10.1055/s-0033-1344330. 査読有

Kato S, Akimoto K, Nagashima Y, Ishiguro H, Kubota K, Kobayashi N, Hosono K, Watanabe S, Sekino Y, Sato T, Sasaki K, Nakaigawa N, Kubota Y, Inayama Y, Endo I, Ohno S, Maeda S, Nakajima A. aPKC λ 1 is a beneficial prognostic marker for pancreatic neoplasms. *Pancreatology.* 2013;13:360-8. doi: 10.1016/j.pan.2013.05.006. 査読有

Nonaka T, Sekino Y, Iida H, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Higurashi T, Hosono K, Endo H, Koide T, Takahashi H, Fujita K, Yoneda M, Goto A, Kusakabe A, Kobayashi N, Gotoh E, Maeda S, Nakajima A, Nosaka C, Inamori M. Early Effect of Single-dose Sitagliptin Administration on Gastric Emptying: Crossover Study Using the (13)C Breath Test. *J Neurogastroenterol Motil.* 2013;19:227-32. doi: 10.5056/jnm.2013.19.2.227. 査読有

Watanabe S, Kobayashi N, Kubota K, Sato T, Kato S, Hosono K, Shimamura T, Inayama Y,

Nakajima A, Endo I. A novel scoring system for arterial invasion of pancreatic body and tail cancer based on multidetector row computed tomography and biomarkers. *Pancreatology.* 2013;13:161-9. doi: 10.1016/j.pan.2012.12.364. 査読有
Kubota K, Sato T, Watanabe S, Hosono K, Kobayashi N, Mori R, Taniguchi K, Matsuyama R, Endo I, Nakajima A. Covered self-expandable metal stent deployment promises safe neoadjuvant chemoradiation therapy in patients with borderline resectable pancreatic head cancer. *Dig Endosc.* 2014;26:77-86. doi: 10.1111/den.12049. 査読有

Kubota K, Fujita Y, Sato T, Watanabe S, Hosono K, Yoneda M, Kirikoshi H, Hisatomi K, Matsuhashi N, Endo I, Inayama Y, Nakajima A. Tumor diameter and Ki-67 expression in biopsy could be diagnostic markers discriminating from adenoma and early stage cancer in patients with ampullary tumors. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2013;20:531-7. doi: 10.1007/s00534-013-0594-2. 査読有

Sakai E, Endo H, Taniguchi L, Hata Y, Ezuka A, Nagase H, Yamada E, Ohkubo H, Higurashi T, Sekino Y, Koide T, Iida H, Hosono K, Nonaka T, Takahashi H, Inamori M, Maeda S, Nakajima A. Factors predicting the presence of small bowel lesions in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Endosc.* 2013;25:412-20. doi: 10.1111/den.12002. 査読有

Takahashi H, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Higurashi T, Uchiyama T, Hosono K, Endo H, Nakajima A. Relationship of human rectal aberrant crypt foci and formation of colorectal polyp: One-year following up after polypectomy. *World J Gastrointest Endosc.* 2012 16;4:561-4. doi: 10.4253/wjge.v4.i12.561. 査読有

Hosono K, Yamada E, Endo H, Takahashi H, Inamori M, Hippo Y, Nakagama H, Nakajima A. Increased tumor necrosis factor receptor 1 expression in human colorectal adenomas. *World J Gastroenterol.* 2012;18:5360-8. doi: 10.3748/wjg.v18.i38.5360. 査読有

Kubota K, Sato T, Kato S, Watanabe S, Hosono K, Kobayashi N, Hisatomi K, Matsuhashi N, Nakajima A. Needle-knife precut papillotomy with a small incision over a pancreatic stent improves the success rate and reduces the complication rate in

difficult biliary cannulations. J Hepatobiliary
Pancreat Sci. 2013;20:382-8.

doi: 10.1007/s00534-012-0552-4. 査読有

Higurashi T, Hosono K, Endo H, Takahashi
H, Iida H, Uchiyama T, Ezuka A, Uchiyama
S, Yamada E, Ohkubo H, Sakai E, Maeda S,
Morita S, Natsumeda Y, Nagase H, Nakajima
A. Eicosapentaenoic acid (EPA) efficacy for
colorectal aberrant crypt foci (ACF): a
double-blind randomized controlled trial.
BMC Cancer. 2012;12:413.

doi: 10.1186/1471-2407-12-413. 査読有

6 . 研究組織

(1)研究代表者

細野 邦広 (HOSONO, Kunihiro)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号 : 50537339