

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：16201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21203

研究課題名(和文) バレット食道腺癌におけるアンジオテンシン 受容体拮抗薬の抗腫瘍効果の基礎的研究

研究課題名(英文) Antitumor effect of telmisartan on the cell proliferation and tumor growth in human esophageal adenocarcinoma

研究代表者

藤原 新太郎 (Fujihara, Shintaro)

香川大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：30612486

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：アンジオテンシン受容体拮抗薬であるテルミサルタンは広く処方されている高血圧症の治療薬である。本研究ではテルミサルタンの食道腺癌に対する抗腫瘍効果を証明し、その作用機構と関連するマイクロRNAの同定を行った。In vitroとIn vivoの実験において、テルミサルタンは食道腺癌細胞株の細胞および腫瘍増殖を時間・濃度依存的に抑制していた。またテルミサルタンは細胞周期関連蛋白CyclinEなどの低下により細胞周期停止と腫瘍増殖抑制効果を誘導する。さらなる抗腫瘍作用のメカニズムとして、AMPK のリン酸化亢進によるmTORの抑制、miR-301a-3pの発現が低下が抗腫瘍作用に関与すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Telmisartan, a widely used antihypertensive drug, is an angiotensin II type 1 (AT1) receptor blocker (ARB). This drug inhibits cancer cell proliferation, but the underlying mechanisms in various cancers, remain unknown. The aim of the present study was to evaluate the effects of telmisartan on human esophageal cancer cell proliferation in vitro and in vivo. We assessed the effects of telmisartan on human esophageal adenocarcinoma cells. Telmisartan inhibited the proliferation of these three cell lines via blockade of the G0 to G1 cell cycle transition. This blockade was accompanied by a strong decrease in cyclin E, and other cell cycle-related proteins. Notably, the AMP-activated protein kinase (AMPK) pathway was enhanced by telmisartan. Furthermore, miRNA expression was significantly altered by telmisartan in vitro and in vivo. In conclusion, telmisartan suppressed human EAC cell proliferation and tumor growth by inducing cell cycle arrest via the AMPK/mTOR pathway.

研究分野：腫瘍学

キーワード：テルミサルタン 食道癌 マイクロRNA 細胞周期 アポトーシス バレット食道癌

1. 研究開始当初の背景

アンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)は世界的に処方されている高血圧症の治療薬であるが、近年の基礎的研究において、ARBが胃癌、子宮癌などに対して腫瘍増殖抑制するとの報告がある。またARB長期内服患者において肺癌発生のリスクを低下させ、膵癌患者において臨床的な予後の改善させた疫学的な報告も散見される。その抗腫瘍効果の主要なメカニズムとしてアポトーシスの誘導などがあげられるが、癌細胞に対する細胞周期の抑制効果や関連するマイクロRNAについての研究はまだ十分ではない。

2. 研究の目的

テルミサルタンの食道腺癌に対する抗腫瘍効果のメカニズムと新しい機構に関連するマイクロRNAを網羅的に解析し、in vivoを含めたテルミサルタンの抗腫瘍作用機構について検討した。

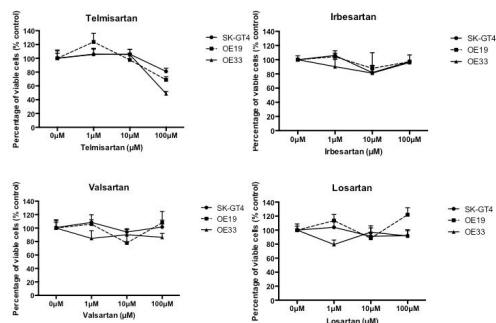
3. 研究の方法

4種類のARB(テルミサルタン, イルベサルタン, バルサルタン, ロサルタン)、3種類の食道腺癌細胞株(OE19, OE33, SK-GT4)に対して細胞増殖アッセイを行い、細胞周期への関与および関連蛋白の評価をウェスタンブロットとフローサイトメトリーを用いて行った。またテルミサルタンの抗腫瘍効果に関連するレセプター型チロシンキナーゼ、血管新生分子、マイクロRNAの網羅的解析について検討を行った。さらにIn vitroの系で強い癌抑制効果のあった細胞株をヌードマウスの皮下に移植し、テルミサルタンの投与によって、癌増殖の抑制を促すかどうかを検討した。

4. 研究成果

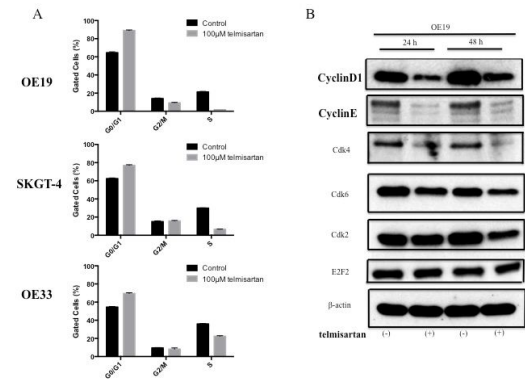
(1)テルミサルタンによる食道腺癌細胞株に対する腫瘍細胞増殖抑制効果

4種類のARB(テルミサルタン, イルベサルタン, バルサルタン, ロサルタン)、3種類の食道腺癌細胞株(OE19, OE33, SK-GT4)に対して細胞増殖アッセイを行い、テルミサルタンのみ濃度・時間依存的に抗腫瘍効果を示していた。またin vivoの実験系では、テルミサルタンにより皮下移植された腫瘍組織の増殖において抗腫瘍作用を発揮することが示唆された。



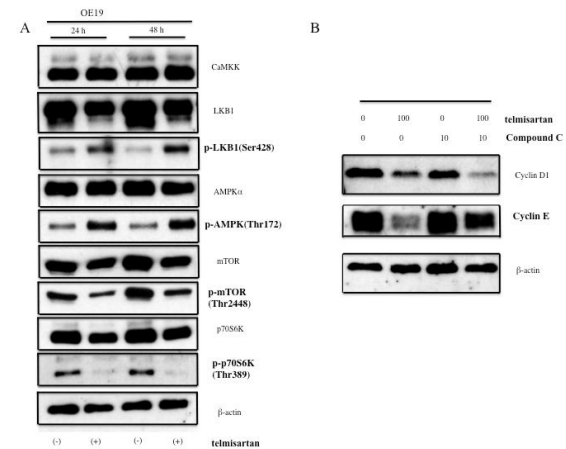
(2)テルミサルタンと細胞周期

テルミサルタンの食道腺癌細胞株の細胞周期に与える影響をフローサイトメトリーで解析し、テルミサルタンによりG0/G1期からS期への移行が抑制され、細胞周期停止を誘導していた。また食道腺癌細胞株のアポトーシスに対する影響をアネキシンとPIを用いてフローサイトメトリーで解析したが、テルミサルタンは食道腺癌細胞株のアポトーシスを誘導しなかった。さらに細胞周期関連蛋白についてウェスタンブロットで評価したところ、テルミサルタン投与24、48時間後に細胞周期関連蛋白CyclinE, CyclinD1の低下を認め細胞周期停止を誘導に關与するものと考えられた。



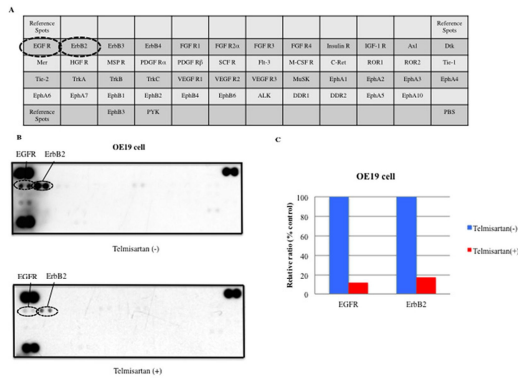
(3)テルミサルタンの AMPK /mTOR 経路への影響

テルミサルタンの新しい抗腫瘍作用のメカニズムとして、AMPKのリン酸化亢進によるmTORの抑制、その下流に位置する細胞周期関連蛋白の低下することを確認した。テルミサルタンによりAMPK上流のLKB-1のリン酸化と、下流のmTOR, p70S6Kのリン酸化抑制がみられ、腫瘍増殖抑制効果に關与するものと考えられた。またテルミサルタンの細胞周期に与える経路としてAMPK /mTOR経路が重要と考えられたため、Compound CでAMPKを阻害したところ、細胞周期関連蛋白CyclinEの発現が亢進しており、テルミサルタンはAMPK /mTOR経路を介し細胞周期停止に關与することが示唆された。



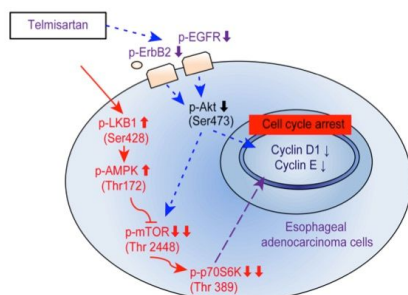
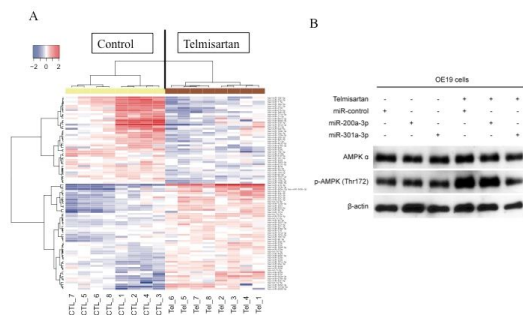
(4)テルミサルタンのレセプター型チロシンキナーゼへの影響

テルミサルタンの癌細胞抑制に関連するレセプター型チロシンキナーゼ、血管新生分子をメンブレン抗体アレイで解析したところ、EGFR, ERBB2 のリン酸化が抑制されていた。



(5)テルミサルタンの癌細胞増殖抑制に関連する標的マイクロRNAについての網羅的検討と機能解析

テルミサルタンの癌細胞抑制に関連するマイクロRNAをアレイチップで解析したところ、テルミサルタン投与群とコントロール群で異なるクラスターを形成していた。なかでもテルミサルタンにより miR-301a-3p の発現が低下し、AMPK のリン酸化に関与すると考えられた。



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 2件)

1. 藤原新太郎, 他 1 名, アンジオテンシン II 受容体拮抗薬 telmisartan による食道腺癌に対する細胞増殖抑制機構、別冊 BIO Clinica 慢性炎症と疾患 消化管の慢性炎症、査読無、6 巻、2017、111-116

2. Fujihara S(1st), Iwama H, Masaki T and 7 others The angiotensin II type1 receptor antagonist telmisartan inhibits cell proliferation and tumor growth of esophageal adenocarcinoma via the AMPK α /mTOR pathway in vitro and in vivo, Oncotarget、査読有、8(5)巻、2017、8536-8549

[学会発表](計 3件)

1. Fujihara S, 2 others, Antitumor effect of telmisartan on the cell proliferation and tumor growth in human esophageal adenocarcinoma APDW2017、2017.9.23-26, Wanchai, Hong Kong

2. 藤原新太郎、他 2 名、アンジオテンシン受容体拮抗薬 telmisartan による食道腺癌による細胞増殖抑制、第 103 回日本消化器病学会総会、2017 年 4 月 20-22 日

3. 藤原新太郎、他 10 名、アンジオテンシン受容体拮抗薬 telmisartan による食道腺癌による細胞増殖抑制、日本消化器病学会四国支部第 105 回例会、2016 年 6 月 18-19 日

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

藤原 新太郎 (FUJIHARA, Shintaro)
香川大学・医学部附属病院・病院助教
研究者番号: 30612486

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：

(4)研究協力者
正木 勉 (MASAKI, Tsutomu)
岩間 久和 (IWAMA, Hisakazu)