

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592430

研究課題名(和文) AMPK・mTORシグナルをターゲットとした子宮筋腫に対する新治療戦略

研究課題名(英文) Uterine leiomyoma and AMPK/mTOR signal transduction pathway- a new therapeutic strategy.

研究代表者

武田 卓 (TAKEDA, Takashi)

近畿大学・東洋医学研究所・教授

研究者番号：20301260

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病治療薬であるメトホルミンを用いて、子宮筋腫細胞におけるAMPK・mTORシグナルを標的とした、細胞増殖抑制機構とVEGF産生抑制機構を明らかにした。メトホルミンはAMPKを活性化し、mTORシグナル伝達経路を抑制し、細胞増殖とVEGF産生の両者を抑制した。また、メトホルミンは低酸素下でのHIF-1をpost-translational levelで抑制した。メトホルミンは細胞増殖と血管新生の両面から、子宮筋腫増大に抑制的に作用する可能性が示唆される結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：Metformin is an anti-diabetic drug that is used all over the world. We have proved its anti-tumor effect and anti-angiogenic effect through suppression of the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway.

研究分野：産婦人科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：子宮筋腫 mTOR メトホルミン 細胞増殖 血管新生 VEGF 分子標的

様式 C - 19、F - 19、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮筋腫は多くの女性のQOLを著しく傷害するのにもかかわらずエストロゲン以外の増殖系解析はほとんど行われておらず、長期投与可能な薬物療法がない。これまでの検討で、子宮筋腫病態生理におけるメタボリックシンドロームとの共通性に注目し、メタボリックシンドロームで重要な役割をはたすアンジオテンシン・アルドステロンの筋腫細胞増殖機構を明らかにした。

2. 研究の目的

メタボリックシンドロームの病態で中心的役割をはたすインスリン抵抗性に注目し、そのなかで重要な役割をはたすと考えられるmTORをターゲットとしたメトホルミンによる子宮筋腫治療応用を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 子宮筋腫モデル細胞としてラット子宮筋腫由来細胞株であるELT3細胞を用いた。

(2) 子宮筋腫患者より摘出した子宮筋腫を超免疫不全マウスであるNOGマウスに移植し、ヒト子宮筋腫移植モデルマウスを作製した。

(3) 細胞増殖をMTSアッセイ、cell countで評価した。

(4) アポトーシスをタネル染色、cleaved PARP抗体を用いたウエスタンブロットで評価した。

(5) 血管新生に対する効果をELT-3細胞培養上清中のVEGF濃度をELISAで評価した。

(6) 様々なシグナル伝達分子を特異的抗体を用いたウエスタンブロットや阻害剤で評価した。

4. 研究成果

(1) メトホルミンによる子宮筋腫細胞増殖抑制効果

メトホルミンは1mMからELT3細胞増殖抑制効果を示した。また、AMPKのリン酸化を亢進させ、p70S6、S6のリン酸化を減弱させた。AMPK inhibitorであるCompound Cは細胞増殖抑制を阻害した。メトホルミンは濃度依存的にアポトーシスを誘導した(図1)。子宮筋腫組織移植モデルマウスを用いたIn vivoの検討でも、メトホルミンはアポトーシスを誘導し細胞増殖を抑制した(図2)。

(2) メトホルミンによる子宮筋腫細胞VEGF産生抑制効果

メトホルミンは濃度依存的に培養上清・細胞中のVEGF蛋白を抑制した。ELT-3細胞において正酸素下ではHIF-1 α の発現を認めないが、

塩化コバルトによる擬似的低酸素下ではHIF-1 α VEGF蛋白発現の増加を認め、メトホルミンによりその発現が抑制された。一方でメトホルミンはHIF-1 α のmRNAレベルには影響を与えず、post-translational levelで作用する事が示唆された。mTOR阻害剤であるラパマイシンもHIF-1 α VEGF蛋白発現を抑制した。メトホルミンはraptorのリン酸化を介して、mTORC1を抑制し、mTORシグナルを抑制した(図3)。

(3) 子宮平滑筋肉腫細胞mTORシグナル抑制による細胞増殖抑制効果

子宮平滑筋肉腫は子宮筋腫と同様に子宮平滑筋オリジンであり、mTORシグナルが細胞増殖において重要な役割をはたす。クルクミンはmTORシグナルを抑制して、in vitro in vivoの両者において、子宮平滑筋肉腫の細胞増殖を抑制した。

図1

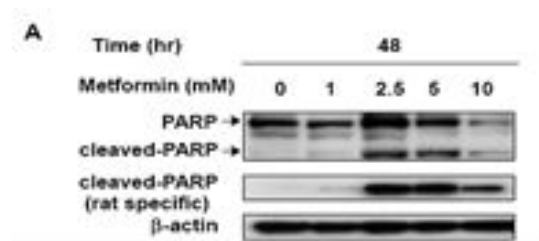


図2

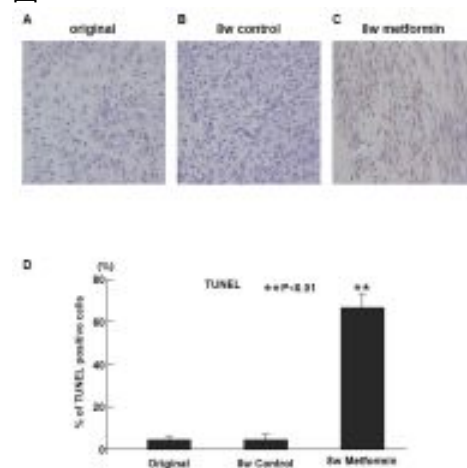
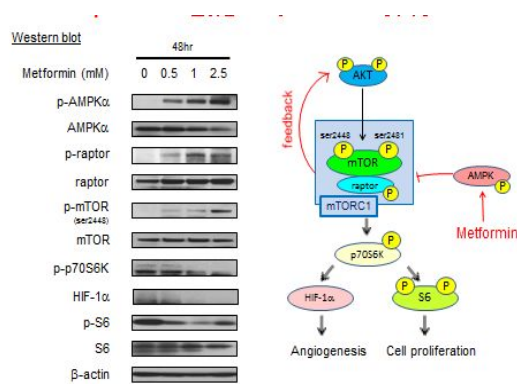


図 3



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Curcumin targets the AKT-mTOR pathway for uterine leiomyosarcoma tumor growth suppression.

Wong TF, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Kondo A, Tadakawa M, Nagase S, Yaegashi N. Int J Clin Oncol. 2013 May 11. Epub ahead of print 査読有

Curcumin induces cross-regulation between autophagy and apoptosis in uterine leiomyosarcoma cells.

Li B, Takeda T, Tsuiji K, Wong TF, Tadakawa M, Kondo A, Nagase S, Yaegashi N. Int J Gynecol Cancer. 2013;23(5):803-8. 査読有

The antidiabetic drug metformin inhibits uterine leiomyoma cell proliferation via an AMP-activated protein kinase signaling pathway.

Li B, Takeda T, Tsuiji K, Kondo A, Kitamura M, Wong TF, Yaegashi N. Gynecol Endocrinol. 2013 ;29(1):87-90. 査読有

Epigallocatechin-3-gallate potentiates curcumin's ability to suppress uterine leiomyosarcoma cell growth and induce apoptosis.

Kondo A, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Kitamura M, Wong TF, Yaegashi N. Int J Clin Oncol. 2013;18(3):380-8. 査読有

Curcumin disrupts uterine leiomyosarcoma cells through AKT-mTOR pathway inhibition.

Wong TF, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Kitamura M, Kondo A, Yaegashi N. Gynecol Oncol. 2011;122(1):141-8.

査読有

(他 7 件)

〔学会発表〕(計 8 件)

The antidiabetic drug metformin inhibits angiogenesis in uterine leiomyoma in vitro

Tadakawa M, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Yaegashi N. 日本産科婦人科学会、東京、2014.4.18.

The anti-diabetic drug metformin suppresses VEGF secretion through inhibition of the mTOR / HIF-1 α pathway in uterine leiomyoma cells

Tadakawa M, Takeda T, Li B, Tsuiji K, Yaegashi N. ISGE 2014, Firenze, Italy, 2014.3.8.

メタボリックシンドロームからみた、子宮筋腫に対する新治療法開発
武田 卓 第 3 回婦人科ホルモン依存性疾患研究会 2012.5.26 東京

ウコン中のクルクミンによる子宮平滑筋肉腫細胞増殖抑制効果 ~ mTOR に対する分子標的療法の可能性

黄 志芳, 武田 卓, 李 賓, 築地謙治, 北村真理, 近藤亜希子, 八重樫伸生 第 50 回 日本婦人科腫瘍学会, 札幌、2011.7.22

メトホルミンによる子宮筋腫細胞増殖抑制効果解析

北村真理, 李 賓, 築地謙治, 黄 志芳, 近藤亜希子, 武田 卓, 八重樫伸生 第 84 回 日本内分泌学会, 神戸、2011.4.22

(他 3 件)

〔その他〕

ホームページ等

近畿大学東洋医学研究所

<http://www.med.kindai.ac.jp/toyo/>

東北大学医学部産婦人科

<http://www.ob-gy.med.tohoku.ac.jp/laboratory/t-takeda.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

武田 卓 (TAKEDA, Takashi)

近畿大学・東洋医学研究所・教授

研究者番号 : 2 0 3 0 1 2 6 0

(2)研究分担者

築地賢治 (TSUIJI, Kenji)
東北大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号： 40528155

李 賓 (LI, Bin)
東北大学・大学院医学系研究科・研究支援者
研究者番号： 20566814