

学位請求論文の内容の要旨

論文提出者氏名	病態制御科学領域内分泌代謝内科学教育研究分野 氏名 村澤真吾
(論文題目) Inhibitory effects of SOM230 on adrenocorticotrophic hormone production and corticotroph tumor cell proliferation <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> (副腎皮質刺激ホルモン産生と腫瘍細胞増殖に対する <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> での SOM230 の阻害効果)	
(内容の要旨) 【目的】 副腎皮質刺激ホルモン (ACTH) 産生下垂体腺腫による Cushing 病の治療の第一選択は手術治療であるが、手術治療による根治が困難である場合、薬物治療を要する ¹⁾ 。現在使用されている治療薬の効果は限定的であり、より治療効果の高い薬剤として、新しいソマトスタチン受容体 (SSTR) アゴニストである SOM230 の有効性が期待されている。SOM230 は従来のソマトスタチン受容体アゴニストである octreotide よりも、SSTR1/5 に 30～40 倍の親和性を示す ²⁾ 。これまでの報告では、SOM230 は、ヒト ACTH 産生腫瘍において ACTH 産生抑制効果が示唆されている ³⁾ 。今回、我々は、マウス ACTH 産生 AtT-20 細胞を用いて、SOM230 の ACTH の分泌、合成及び細胞増殖抑制効果、更に細胞増殖因子や細胞周期調節機構を調べた。また、AtT-20 細胞を移植したマウスに、SOM230 持続投与を行い、その <i>in vivo</i> における効果についても検討した。 【方法】 1) マウス ACTH 産生 AtT-20 細胞に SOM230 を添加し、proopiomelanocortin (POMC) mRNA 及び下垂体の細胞増殖因子 pituitary tumor-transforming gene (PTTG) mRNA 発現を定量 PCR 法にて、培養液 ACTH 濃度を ELISA 法にて測定した。細胞増殖は WST-8 法にて、アポトーシスは DNA fragmentation の検出にてそれぞれ検討した。更に、cyclic adenosine monophosphate response element-binding protein (CREB) 及び Akt リン酸化を Western blot 法によって調べた。細胞周期への影響について fluorescence-activated cell sorting analyses (FACS) を用いて検討した。また、siRNA を使用して SSTR5 発現をノックダウンさせて、POMC mRNA、PTTG mRNA 及び細胞増殖への影響について検討した。 2) AtT-20 細胞を KSN/Slc ノードマウスに皮下移植した。SOM230 投与群又は溶媒投与のみをコントロール群として、浸透圧ポンプを使用し 2 週間持続注入を行った。投与期間中、体重及び血糖を測定した。2 週間後に腫瘍の摘出を行い、体幹採血した。腫瘍細胞 POMC mRNA 及び PTTG mRNA、血中 ACTH 及び corticosterone 濃度を測定した。 【結果】 1) SOM230 は、AtT-20 細胞において、POMC mRNA 及び PTTG mRNA の発現、ACTH 濃度を低下させた。同薬剤は細胞増殖を抑制させたが、DNA fragmentation の増加はみられなかった。FACS 解析では、SOM230 投与による細胞周期への影響を認めなかった。CREB リン酸化及び Akt リン酸化は抑制された。SSTR5 ノックダウンにより POMC mRNA 発現への影響を認めなかったが、PTTG mRNA 発現抑制効果及び細胞増殖抑制効果は減弱された。2) AtT-20 移植マウスにおいて、SOM230 投与は、腫瘍重量を低下させ、腫瘍細胞 POMC mRNA 及び PTTG mRNA の発現を有意に低下させた。また、同投与は、血中 ACTH 値を有意に低下させた一方で、血中 corticosterone 値の低下には有意差を認めなかった。また、マウス体重及び血糖値には、コントロール群と比べて有意差を認めなかった。	

【考察】

SOM230 は、AtT-20 細胞において、ACTH の合成及び分泌、細胞増殖を抑制させることが示唆された。細胞増殖抑制効果の機序として、アポトーシス増加あるいは細胞周期停止効果を期待したが⁴⁾、今回の検討では認められなかった。SSTR5 ノックダウンの検討から、SOM230 投与による PTTG mRNA 発現抑制効果及び細胞増殖抑制効果は、SSTR5 を介した効果であることが示唆された。SOM230 投与による CREB リン酸化及び Akt リン酸化の抑制が確認され、これらは ACTH 分泌及び合成、又は細胞増殖の抑制機序に関与している可能性がある。AtT-20 移植マウスにおいても、同薬剤の ACTH 産生抑制及び細胞増殖抑制作用が証明された。よって、SOM230 が ACTH 産生下垂体腺腫に対して ACTH 産生及び腫瘍細胞増殖抑制作用を持つことが *in vitro* と *in vivo* によって証明された。

参考文献

- 1) Schteingart DE. Drugs in the medical treatment of Cushing's syndrome. J Clin Endocrinol Metab. 14 :661-71, 2009
- 2) Bruns C. et al. SOM230: a novel somatostatin peptidomimetic with broad somatotropin release inhibiting factor (SRIF) receptor binding and a unique antisecretory profile. Eur J Endocrinol. 146:707-16, 2002
- 3) Hofland LJ. et al. The multi-ligand somatostatin analogue SOM230 inhibits ACTH secretion by cultured human corticotroph adenomas via somatostatin receptor type 5. Eur J Endocrinol. 152:645-54, 2005
- 4) Zhang X. et al. Pituitary tumor transforming gene (PTTG) expression in pituitary adenomas. 84:761-7, 1999