

論文内容要旨

論文題目

代謝因子と大腸腺腫内癌の組織毎のトランスクリプトーム変化の関連性

責任講座： 内科学第二 講座
氏 名： 佐藤 瞭

【内容要旨】(1,200 字以内)

【目的】肥満や代謝異常は大腸発癌の重要なリスク因子である。当講座では、この背景にインスリン抵抗性や高インスリン血症、アディポサイトカインの分泌異常、インクレチンの分泌異常、慢性低炎症、腸内細菌叢の変化があることを報告してきた。しかし、この発癌に関わる分子機序は不明な点が多い。そこで今回、大腸腺腫内癌に着目し、代謝因子を加味し、組織別にトランスクリプトーム変化を検討した。

【方法】内視鏡的に切除された大腸腺腫内癌 20 例を対象とした。臍部の CT 横断像で内臓脂肪面積が 100 cm² 以上を肥満群、それ未満を非肥満群とした。切除標本の FFPE 組織からレーザーマイクロダイセクションにて非腫瘍上皮、腺腫、癌部を分けて切り出し、RNA-Seq を行った。発現量が検討できた肥満群 8 例、非肥満群 7 例の遺伝子発現と代謝因子との関連性を比較した。関連のみられた標的蛋白の発現を免疫染色にて評価した。また大腸癌細胞株の標的遺伝子発現変化を RT-qPCR にて解析した。

【結果】両群で年齢や性別、飲酒喫煙歴、大腸癌家族歴に差はなかったが、非肥満群に比し肥満群では空腹時血漿インスリン、HOMA-IR、TG 値が高かった。階層クラスタリング解析では非腫瘍上皮と癌部は明確に区分された。また既報どおり正常大腸上皮からの腺腫、癌になるにつれ発現が上昇する遺伝子群 (*CDH3*, *CEMP*, *FOXQ1*, *KRT80*, *MET*, *MMP7*, *TPD52L1*) は非腫瘍上皮、腺腫、癌部の順に漸増していた。エンリッチメント解析で癌部と非腫瘍上皮を比較すると、肥満群の癌部では Hippo signaling pathway の増強がみられた。この系に含まれる遺伝子のうち *BMP4* の発現は、非肥満群に比し肥満群の癌部で高い傾向 ($p = 0.07$) があり、インスリン低値群に比し高値群 (空腹時血漿インスリン値 6.0 $\mu\text{U/mL}$ 以上) の腺腫 ($p = 0.03$) や癌部 ($p < 0.01$) で高く、さらにこの上昇は空腹時血漿インスリン値と正相関 (腺腫部 $r = 0.67$ 、癌部 $r = 0.54$) を示した。血糖や脂質と関連する遺伝子発現変化は腺腫、癌部では同定できなかった。免疫染色による *BMP4* の発現は、非肥満群では腫瘍頂部付近に局限していたが、肥満群では腫瘍全体に発現を認めた。また、4 つの大腸癌細胞株をインスリンで刺激すると、PBS 投与群に比し、*BMP4* 発現は HT29 で 1.39 ± 0.12 倍 ($p = 0.03$)、HCT116 で 1.59 ± 0.14 倍 ($p = 0.01$)、SW480 で 1.56 ± 0.09 倍 ($p = 0.03$)、LoVo で 1.25 ± 0.07 倍 ($p = 0.04$) 上昇した。

【結論】肥満、高インスリン血症と関連して大腸腺腫内癌における腺腫、癌部では *BMP4* の発現が亢進し、その分布も異なっていた。*BMP4* 発現制御の変調は肥満関連大腸発癌機序に係る新しい分子機序になりうる。

令和 6年12月 12日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名：佐藤 瞭

論文題目：代謝因子と大腸腺腫内癌の組織毎のトランスクリプトーム変化の関連性

審査委員：主審査委員 北中 千史

副審査委員 園田 順彦

副審査委員 伊藤 吏

審査終了日： 令和6年12月 10日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

肥満は大腸癌の罹患率、死亡率と関連することが示されているが(Obesity and colorectal cancer. *Front Biosci* 5:61, 2013)、肥満がいかなる機序で大腸癌の発生・増悪に寄与するかはいまだ多くが不明である。今回申請者はその機序を分子レベルで解明する目的で肥満大腸癌患者(肥満群)、非肥満大腸癌患者(非肥満群)の組織を用いて網羅的遺伝子発現解析を行った。特に本研究では大腸癌発生初期過程の遺伝子変化における肥満の役割を解明する目的から、内視鏡的に切除された腺腫内癌を対象としてマイクロダイセクション法により切除組織内の「非腫瘍上皮部」「腺腫部」「癌部」を別個に切り出し解析に供した。

上記のアプローチにより「非腫瘍上皮部」「腺腫部」「癌部」で差別的な発現が認められる遺伝子・経路、とりわけそういった差分的発現の中でも肥満の有無により影響を受けるものについて探索を行なったところ、肥満群の「癌部」において非肥満群には認められないHippo signaling pathwayの「非腫瘍上皮部」に対する有意な活性化が認められ、さらにHippo経路により発現制御を受けるBMP4遺伝子の発現が非肥満群癌部と比較して肥満群癌部で上昇している傾向が明らかになった。尚、本研究では肥満群において非肥満群より有意な空腹時インスリン高値を確認しているが、近年、肥満に関連する代謝要因の中でも空腹時インスリン高値が大腸癌リスク上昇に重要との報告があることから(*J Natl Cancer Inst* 114:740, 2022)、対象症例を空腹時インスリン値で2群に分けてBMP4遺伝子発現を検討した。その結果、インスリン低値群の「非腫瘍性上皮部」「腺腫部」「癌部」とインスリン高値群の「非腫瘍性上皮部」が同様の発現レベルを示したのに対して高値群の「腺腫部」でBMP4発現が上昇しており「癌部」でさらなる高発現が認められ、いずれも低値群のそれと比較して有意に高かった。そこで次にインスリンが大腸癌におけるBMP4遺伝子発現上昇の誘因となっている可能性につき検討を行うため、4種類の大腸癌細胞株を用いて検討したところ、いずれの細胞株においてもインスリン処理によりBMP4の有意な発現上昇を認めた。

以上の結果は、BMP4発現が大腸癌の予後不良因子であり大腸癌細胞の増殖に寄与しているとの既報を踏まえると、「肥満による血中インスリン上昇がBMP4発現誘導を介して大腸癌の増悪に寄与する」との新たな仮説の形成につながるものと考えられる。審査過程では解析対象の均一性や、BMP4発現誘導におけるインスリン以外の肥満関連代謝因子の寄与の可能性等に関してさらなる検討が必要であることが指摘されたが、本研究で得られた新知見を踏まえて、本審査委員会は本研究が学位(医学)の授与に値するものと判定する。(1,200字)

(1, 200字以内)