

論文内容要旨

論文題目

肥満関連大腸癌における Ten-eleven translocation2 の関与

責任講座 内科学第二講座

氏名： 今 孝志

【内容要旨】 (1,200 字以内)

【背景】本邦では大腸癌の罹患率、死亡率は増加傾向にある。その要因の一つとして肥満、メタボリックシンドロームの増加が考えられている。最近、高血糖が DNA の脱メチル化に関わる TET (ten eleven translocation) 2 の不安定化を惹起しエピジェネティックな DNA 修飾である 5-ヒドロキシメチルシトシン (5-hmC) レベルを低下させ、発癌に促進的に作用することが報告された。耐糖能障害、インスリン抵抗性は肥満、メタボリックシンドロームにおける中心的な病態であり、肥満関連大腸発癌において TET2 が重要な役割があることが示唆される。本研究では肥満関連大腸癌における TET2 および 5-hmC の発現および TET2 が大腸癌細胞の増殖活性に与える影響を検討した。【方法】2017 年 4 月～2019 年 3 月までに山形大学医学部附属病院で外科的に切除された大腸癌患者 81 例を対象とした。術前の CT 画像による内臓脂肪面積が 100 cm²以上を肥満と定義し、肥満群 7 例と非肥満群 7 例の TET2 および 5-hmC の発現について比較解析した。また大腸癌細胞株 (HT-29、HCT116) ヘグルコース、インスリン、脂肪酸、TET2siRNA、AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D-ribofuranoside) を投与し、TET2 が増殖活性に与える影響を検討した。【結果】免疫染色では非癌部に比し、癌部では有意に 5-hmC の核内発現の低下を認めた ($p < 0.01$)。ELISA で測定した組織中の DNA の 5-hmC%は、非癌部に比し癌部で有意に低下し ($p = 0.01$)、また癌部では非肥満群に比べて肥満群で有意に低下していた ($p = 0.03$)。非癌部に比し、癌部では TET2 ($p < 0.01$)、TET3 ($p = 0.03$) の mRNA が低下していたが、癌部では非肥満群に比し肥満群で TET2 のみ発現が低下していた ($p = 0.04$)。免疫染色では TET2 は非癌部に比し癌部で核内発現の低下を認めたが ($p < 0.01$)、非肥満群と肥満群との発現レベルの差は同定できなかった。グルコース、インスリン刺激で HT-29、HCT116 の増殖活性が上昇し、TET2 の発現のみ低下した ($p < 0.05$)。脂肪酸の投与では TET1～3 の発現に変化を認めなかった。HT-29、HCT116 の増殖活性は、TET2siRNA 投与によって上昇し、AICAR による TET2 の発現亢進とともに低下した。【結論】肥満者の大腸癌組織中で 5-hmC および TET2 の発現レベルが低下し、グルコースやインスリン刺激による大腸癌細胞の増殖活性亢進に TET2 が関与することを初めて明らかにした。耐糖能障害、インスリン抵抗性を背景にした肥満からの大腸発癌機序に TET2 が重要な役割を果たしていると考えられた。

令和 3 年 1 月 7 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： 今 孝志

論文題目： 肥満関連大腸癌における Ten-eleven translocation2 の関与

審査委員：主審査委員 吉岡 孝志



副審査委員 元井 冬彦



副審査委員 石澤 賢一



審査終了日：令和 ~~2~~³ 年 1 月 7 日

【 論文 審査 結果 要 旨 】

大腸癌の罹患率、死亡率は増加傾向にある。その要因の一つとして食生活の欧米化や身体活動の低下に伴う肥満、メタボリックシンドロームの増加が考えられる。最近、高血糖が DNA の脱メチル化に関わる TEN(ten eleven translocation)2 の不安定化を惹起しエピジェネティックな DNA 修飾である 5-ヒドロキシメチルシトシン (5-hmC) レベルを低下させ、発癌に促進的に作用することが報告された。しかし、肥満関連大腸癌との関係はまだ明らかではない。

そこで今氏は、肥満関連大腸癌における TET2 および 5-hmC の発現および TET2 が大腸癌細胞の増殖活性に与える影響を検討した。

2017 年 4 月から 2019 年 3 月までに山形大学医学部附属病院第 2 内科で大腸癌と診断し外科的に切除された 81 例のうち、術前 CT 画像による内臓脂肪面積が 100 cm² 以上を肥満と定義し、年齢、性別、病期を合わせた肥満群 7 例と非肥満群 7 例を解析した。5-hmC は ELISA および IHC にて、TET は RT-qPCR および IHC で評価した。また大腸癌細胞株(HT-29、HCT116)へグルコース、インスリン、脂肪酸(パルミチン酸、オレイン酸)、TET2siRNA、AICAR を投与し、TET2 が増殖活性に与える影響を検討した。

非肥満群に比し、肥満群で内臓脂肪面積、body mass index、FPG、FPI、HOMA-IR が高かった。ゲノム DNA 肥満群と非肥満群で差は認めなかった。非肥満群に比し、癌部では有意に 5-hmC の核内発現の低下を認めた ($p < 0.01$)。ELISA で測定した組織中の DNA の 5-hmC%は、非癌部に比し癌部で有意に低下し ($p = 0.01$)、また癌部では非肥満群に比べて肥満群で有意に低下していた ($p = 0.03$)。非癌部に比し、癌部では TET2 ($p < 0.03$)、TET3 ($p = 0.03$) の mRNA が低下していたが、癌部では非肥満群に比し肥満群で TET2 のみ発現が低下していた ($p = 0.04$)。IHC では TET2 は非癌部に比し癌部で核内発現の低下を認めたが ($p < 0.04$)、非肥満群と肥満群との発現レベルの差は同定できなかった。グルコース、インスリン刺激で HT-29、HCT116 の増殖活性が上昇し、TET2 の発現のみ低下した ($p < 0.05$)。飽和・不飽和脂肪酸の投与では TET1~3 の発現の変化を認めなかった。HT-29、HCT116 の増殖活性は、TET2siRNA 投与により上昇し、AICAR による発現亢進で低下した。

以上、肥満者の大腸癌組織中で 5-hmC および TET2 の発現レベルが低下し、グルコースやインスリン刺激による大腸癌細胞の増殖活性亢進に TET2 が関与すること初めて明らかにした。

これに対し、肥満群・非肥満群としてどういった症例を選んだのか、確定的な基準あるいは除外した基準などを並べていき、どういう基準を選び出したかわかりやすくすることという意見が出た。その診断基準を確かめた上で、学位審査は合格とされた。