

氏 名 ・ (本籍)	高橋 誠 (秋田県)
専攻分野の名称	博士 (医学)
学 位 記 番 号	医博甲第 925 号
学位授与の日付	平成 29 年 3 月 22 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	医学系研究科医学専攻
学 位 論 文 題 名	Inverse relationship between insulin receptor expression and progression in renal cell carcinoma (腎細胞癌におけるインスリン受容体の発現と癌進展の逆相関)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 大森 泰文 (副査) 教授 高橋 直人 教授 本山 悟

学位論文内容要旨

Inverse relationship between insulin receptor expression
and progression in renal cell carcinoma
(腎細胞癌におけるインスリン受容体の発現と癌進展の逆相関)

申請者氏名 高橋誠

研 究 目 的

疫学的に肥満や糖尿病と癌の発症・進展の関連性が示唆されている。インスリンは糖代謝で重要な役割を担うと同時に、PI3k-Akt-mTOR 経路を活性化する強力な増殖因子でもあり、インスリンシグナルの癌の発症や進展における役割が注目されている。腎細胞癌の発癌と肥満との間には前立腺癌や乳癌よりも強い正の関連が報告されているが、腎細胞癌の進展と肥満には負の関連が報告されている。肥満と発癌および進展の関係は逆になっており、腎細胞癌における「肥満パラドックス」と呼ばれている。我々は、腎癌細胞株、マウスモデル、および腎細胞癌患者の臨床検体を使用して、腎細胞癌の進展とインスリンシグナルの関係を検討した。

研 究 方 法

2007 年 2 月から 2011 年 6 月までに、当科で腎摘除術を受け、腎細胞癌と診断された 99 症例について、摘出標本を抗インスリン受容体抗体、および抗 IGF-1 受容体抗体で免疫染色を行い、その発現を Allred score 法で評価した。術前空腹時の血清 C ペプチド、インスリン、IGF-1 濃度を測定し関連を検討した。

マウス腎癌細胞株 RENCA を培養し、細胞増殖実験を行った。腫瘍細胞を用いてウエスタンブロッティングを行い、インスリン受容体発現の定量およびインスリンシグナルを検討した。

また Balb/c マウスを 2 群に分け、高炭水化物食と低炭水化物食を与え、糖負荷試験および血清インスリン濃度測定を行った。更にそれぞれをメトホルミン治療群と非治療群に分け、計 4 群とした。マウス側腹部皮下にマウス腎癌細胞株 RENCA を 2×10^5 個皮下注射し、腫瘍増殖を検討した。マウスから腫瘍を切除し、ウエスタンブロッティングを行い、インスリン受容体発現の定量およびインスリンシグナルを検討した。マウス血清を採取しインスリン濃度を ELISA で測定した。

研 究 成 績

腎細胞癌摘出標本でのインスリン受容体発現は、Allred score 法で 0-2 点 10 例、3-5 点 65 例、6 点 15 例、7-8 点 9 例であった。インスリン受容体の発現は、pT2 以上および有転移患者の腎癌組織で有意に低かった ($p=0.028$ 、 $p=0.005$)。血清 C ペプチドが中央値以上の患者での腎細胞癌組織では、インスリン受容体の発現は有意に低かった ($p=0.044$)。インスリン受容体の高発現例は低発現例に比べ、腎摘除術後の無病生存期間および全生存期間が有意に良好であった ($p=0.015$ 、 $p=0.031$)。単変量解析で低インスリン受容体発現、BMI 高値、TNM の高ステージ例は腎細胞癌の予後不良因子であった。

細胞増殖実験で、RENCA 細胞はインスリン投与用量依存的に増殖した。ウエスタンブロッティングでは、インスリン受容体のリン酸化とインスリン受容体カスケードの下流に存在する Akt のリン酸化がインスリン用量依存的に亢進した。

高炭水化物食を摂取した Balb/c マウスは、低炭水化物食群に比べ有意に体重、糖負荷試験後の血糖値、および血清インスリン濃度がそれぞれ増加した ($p=0.001$ 、 $p = 0.014$ 、 $p = 0.029$)。しかしこれらのマウスに RENCA 細胞を皮下注射したところ、高炭水化物食群では低炭水化物食に比較し、腫瘍体積は有意ではないが増大した ($p = 0.127$)。

高炭水化物食と低炭水化物食、さらにメトホルミン投与の有無でマウスを 4 群に分けた。糖負荷試験では、高炭水化物食+メトホルミン投与群では、高炭水化物食+メトホルミン非投与群に比べ血糖値が有意ではないが低値であった ($p=0.09$)。血清インスリン濃度は、低炭水化物食群および高炭水化物+メトホルミン投与群では高炭水化物食群より有意に低値であった ($p=0.034$ 、 $p=0.028$)。腫瘍増殖実験では、高/低炭水化物食を問わず、メトホルミン投与群では非投与群に比べ腫瘍体積が有意に小さかった ($p=0.046$)。

メトホルミンを投与した高炭水化物食マウス群の RENCA 腫瘍では、メトホルミン非投与で高炭水化物食群の腫瘍に比べ、インスリン受容体発現が有意に亢進した ($p=0.047$)。

結 論

腎細胞癌のインスリン受容体発現は、臨床検体およびマウスモデルの両方で血清インスリン濃度および腎癌腫瘍増殖と逆関連を示した。マウスモデルでのメトホルミンによる腫瘍抑制効果は血清インスリン濃度低下によるインスリンシグナルの抑制による作用よりは、腫瘍細胞へのメトホルミンの直接作用によると考えられた。高インスリン血症による腫瘍増殖は RENCA においては認められなかった。腎細胞癌進展における肥満との逆関連に、インスリンシグナルが腫瘍増殖に強く関与していないことが影響している可能性が示唆された。

学位（博士一甲）論文審査結果の要旨

主 査： 大森 泰文
申請者： 高橋 誠

論 文 題 名： Inverse relationship between insulin receptor expression and progression in renal cell carcinoma（腎細胞癌におけるインスリン受容体の発現と癌進展の逆相関）

要旨

肥満や糖尿病とがんの発生および進展との関連性に関する報告によると、乳癌や前立腺癌を始めとする多くのがんにおいては肥満や糖尿病が予後不良因子となる傾向があるのに対し、腎細胞癌においてはむしろ予後良好因子であり、“obese paradox”とよばれている。著者は、2 型糖尿病と腎細胞癌の進展との関連に着目し、腎細胞癌におけるインスリン受容体（IR）や IGF1 受容体の発現と癌の進展度および患者の生存率との関連を調べる目的で、多数の腎細胞癌臨床検体におけるこれら受容体の発現を免疫染色で評価したところ、癌の進展度が高いほど IR の発現が低くなること、また IR の発現が高い患者ほど生存率が高いことを見出した。さらに、マウス腎細胞癌由来 RENCA 細胞をマウス皮下に移植したところ、高炭水化物食による高インスリン状態の方が低炭水化物食による低インスリン状態よりも RENCA 腫瘍における IR の発現が低いことを見出し、腎細胞癌の IR 発現にはインスリンによる負のフィードバックが関与していることを示唆するに至った。また、糖尿病治療薬 metformin により RENCA 腫瘍の増殖が効率的に抑制されたことから、AMP キナーゼによる IR-Akt-mTOR シグナル経路の阻害が腎細胞癌の進展抑制に寄与することを示した。

本論文の斬新さ、重要性、実験方法の正確性、表現の明瞭さは以下の通りである。

1）斬新さ

ヒト腎細胞癌の obese paradox は広く知られているが、そのメカニズムに腫瘍の IR の発現量が関与していることを、臨床検体を用いて明確に示した初めての論文であり、非常に斬新な研究といえる。さらに、培養細胞を用いた実験や動物実験を行うことで、分子レベルでの考察を加えている点も新規性がある。

2）重要性

腎細胞癌の発生や進展に生活習慣病が影響を与えること、それが IR 発現量と逆相関することを明瞭に示したことは、腎細胞癌のコントロール戦略に多大な貢献するものと期待される。特に AMP キナーゼ活性の増強が腎細胞癌抑制に重要であることを提示したことは、治療戦略を考える上でも有用な知見となると期待される。

3）研究方法の正確性

すべての腎細胞癌検体は病理組織学的に確定されたものであり、IR 等の免疫染色も定法にしたがったものである。また染色態度の質的評価に関しても Allred scoring にしたがって妥当な方法がとられている。さらに、統計学的解析やその解釈も正確に遂行されている。動物実験に関しても正しい対照実験が行われており、信頼性がある。

4）表現の明瞭さ

研究の背景と目的、研究方法、実験結果の記載と図表の提示方法は明瞭で理解しやすい。また、考察も論理的に組み立てられているとともに、本研究において解明できなかった点や解釈が困難な点、これからの課題と展望も丁寧に説明されており、高く評価できる。

以上述べたように、本論文は学位を授与するに十分値する研究と判定された。