

氏名・(本籍)	伊藤 隆一 (岩手県)
専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	医博甲第 949 号
学位授与の日付	平成 29 年 9 月 27 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	The impact of obesity and adiponectin signaling in patients with renal cell carcinoma : A potential mechanism for the "obesity paradox" (腎細胞癌患者における肥満とアディポネクチンシグナル伝達の影響:肥満パラドックスの潜在的機序の検討)
論文審査委員	(主査) 教授 後藤 明輝 (副査) 教授 高橋 直人 教授 佐々木 雄彦

学位論文内容要旨

論文題目

The impact of obesity and adiponectin signaling in patients with renal cell carcinoma: A potential mechanism for the "obesity paradox"

腎細胞癌患者における肥満とアディポネクチンシグナル伝達の影響：
肥満パラドックスの潜在的機序の検討

申請者氏名 伊藤 隆一

研究目的

肥満患者は腎細胞癌の発症率が高いが、癌特異的死亡率は非肥満患者と比較し低い。この現象は、腎癌の肥満パラドックスとして知られているが、そのメカニズムは未だ解明されていない。

アディポカインは肥満関連疾患の調整因子である。最近の研究で、腎細胞癌において、低血清アディポネクチンレベルが高悪性度癌や転移と関連していることが示されている。また、外因性のアディポネクチンが癌細胞において細胞増殖およびアポトーシスを調整していることが示されている。加えて、アディポネクチン受容体1(AdipoR1)及びアディポネクチン受容体2(AdipoR2)も、腎細胞癌を含み発症に関与することが示されている。

本研究では、外科的治療を受けた腎癌患者の血清及び組織標本を用いて、肥満及びアディポネクチンが腎細胞癌患者の臨床転機に及ぼす影響を調べた。また、外因性のアディポネクチン負荷が腎細胞癌細胞株に及ぼす影響を調べることにより、腎細胞癌の肥満パラドックスのメカニズムを検討した。

研究方法

臨床検体は、2005年から2011年の間に秋田大学医学部付属病院で腎細胞癌に対する手術治療を受けた129例を対象とした。

アディポネクチン測定ELISAキットを用いて、腎周囲脂肪組織上清のアディポネクチンレベルを測定した。腫瘍組織および腫瘍周囲正常腎組織におけるAdipoR1およびAdipoR2のmRNAレベルをqRT-PCRを用いて測定した。91例の組織サンプルを用いて、AdipoR1の免疫組織染色を行った。

786-0及びCaki-2の2種の腎癌細胞株において、MTT Assayを用いて外因性のアディポネクチン負荷が細胞増殖能に与える影響を検討した。また、786-0およびCaki-2において、フローサイトメトリーによる細胞周期解析を行い、外因性アディポネクチン負荷がアポトーシスに及ぼす影響を解析した。

Wound healing assayを用いて細胞遊走能に対する、Matrigel invasion assayを用いて細胞浸潤能に対する外因性アディポネクチン負荷の影響を検討した。

Western Blottingでアポトーシス及び細胞増殖関連のシグナルを検討した。

統計解析は、SPSS version19を用いて行った。

研究成績

肥満・過体重患者は正常体重患者と比べ、腫瘍サイズが小さく、病理学的Tステージが低い傾向があった。また、肥満・過体重患者は正常体重患者と比べ、有意に低悪性度癌が多かった。疾患特異的生存率は、肥満・過体重患者において有意に良好であった。

腎細胞癌患者において、BMIと血清総アディポネクチンレベルは弱い逆相関関係を示した。また径の大きい腫瘍において、血清アディポネクチンレベルが高い傾向にあった。転移のない症例においては、血清総アディポネクチンレベルが高い群は全生存率が有意に不良であった。

腎周囲脂肪組織上清のアディポネクチンレベルは、腎細胞癌の悪性度及び生存率とは相関しなかった。

また、腎細胞癌組織のAdipoR1, AdipoR2の発現も悪性度及び生存率とは相関しなかった。

ヒト腎細胞癌細胞株(786-0及びCaki-2)を用いて、外因性アディポネクチン負荷による、細胞増殖能、細胞遊走能、細胞浸潤能の影響を解析した。アディポネクチン負荷により細胞増殖能は有意に亢進した。しかし、細胞遊走能、細胞浸潤能に対しては影響を及ぼさなかった。

外因性アディポネクチンは飢餓およびメトフォルミン誘発アポトーシスを有意に阻害した。アディポネクチン負荷によりCaki-2においてp-AMPKが、786-0においてBel-xLの発現が亢進した。

結論

外科的治療を受けた腎細胞癌患者において、血清総アディポネクチンレベルはBMIと逆相関し、BMIが低いこと及び高血清総アディポネクチンレベルは、高悪性度癌及び予後不良と関連した。しかし、腎周囲脂肪組織のアディポネクチン分泌および腫瘍組織内AdipoR1/R2発現は腎細胞癌の悪性度および治療成績とは関連しなかった。

In vitroにおいて、外因性アディポネクチン負荷は、アポトーシス関連タンパクの発現を調整することによりアポトーシスを阻害し、腎細胞癌細胞株の細胞増殖を亢進させた。

これらの結果は、腎細胞癌の肥満パラドックスの基礎となっている可能性がある。

学位(博士一甲) 論文審査結果の要旨

主査： 後藤 明輝

申請者： 伊藤 隆一

論文題名： The impact of obesity and adiponectin signaling in patients with renal cell carcinoma: A potential mechanism for the “obesity paradox” 腎細胞癌患者における肥満とアディポネクチンシグナル伝達の影響：肥満パラドックスの潜在的機序の検討

要旨

肥満患者は腎細胞癌の発症率が高いが、癌特異的死亡率は非肥満患者と比較し低い。この腎癌の肥満パラドックスとして知られる現象につき、申請者はアディポネクチンの役割につき検討した。実験は腎細胞癌臨床例の解析と細胞生物学的実験の2つの柱からなり、以下のとおりである。1) 腎細胞癌臨床検体129例につき、血清ないし腎周囲脂肪組織上清のアディポネクチンレベルとBMIのほか、症例予後など臨床病理学的因子、および腎細胞がんのアディポネクチン受容体(AdipoR1, R2)の発現などとの相関を検討した。2) ヒト腎細胞癌細胞株(786-O及びCaki-2)を用いて、外因性アディポネクチン負荷による、細胞増殖能、細胞遊走能、細胞浸潤能の影響を解析した。その結果、1) 外科的治療を受けた腎細胞癌患者において、血清総アディポネクチンレベルはBMIと逆相関し、BMIが低いこと及び高血清総アディポネクチンレベルは、高悪性度癌及び予後不良と関連するが、腎周囲脂肪組織のアディポネクチン分泌および腫瘍組織内AdipoR1/R2発現は腎細胞癌の悪性度および治療成績とは関連しないこと、および2) *In vitro*において、外因性アディポネクチン負荷は、アポトーシス関連タンパクの発現を調整することによりアポトーシスを阻害し、腎細胞癌細胞株の細胞増殖を亢進させることが明らかとなった。これらの結果は、腎細胞癌の肥満パラドックスの基礎となる可能性が示唆される。

斬新さ

腎癌の肥満パラドックスについては、その分子生物学的な機序は明らかではな

い。この問題に対し、近年、メタボリックシンドロームなど各種の病態で注目を集めるアディポネクチンとのかかわりから解明をこころみる本研究は前例がなく、斬新である。

1) 重要性

BMIが低い腎細胞癌患者は予後不良である。したがって、その機序が明らかとなれば低BMIの腎細胞癌患者、あるいは腎細胞癌患者全体にわたって有効な治療戦略につながる可能性がある。この問題につき、アディポネクチンを起点に探求する本研究は腎細胞癌の治療向上に関わる可能性があり、重要である。また、各種病態への関与が示唆されるアディポネクチンにつき、新作用を解明するという点からも重要といえる。

2) 実験方法の正確性

本研究で用いられたアディポネクチンレベルの測定、免疫組織化学、各種の細胞生物学的検討などに関し、その手法は十分に確立した方法論であり、また、解析に用いられた統計手法も適切なものである。したがって、本研究の実験方法の正確性には疑問の余地がない。また、選択された症例は秋田大学附属病院1施設の症例のみであり、諸因子による影響を受けにくい。したがって、本研究の結果はより信頼性の高いものとなっている。

3) 表現の明瞭さ

本研究の研究目的、方法、実験結果、考察が簡潔、明瞭に記載されている。また、図表も質の高いものであり、その意味するところは明瞭である。

以上から、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。