

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

科学研究費助成事業

研究成果報告書



令和 元 年 6 月 11 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K10068

研究課題名(和文)酸化ストレスを基盤としたメタボリック症候群による乳癌発症機序の解明

研究課題名(英文)analysis of mechanism of cancer induced by metabolic syndrome based on oxidative stress

研究代表者

丸山 達也 (Maruyama, Tatsuya)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任講師

研究者番号：80265818

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題におけるテーマは、メタボリック症候群などの生活習慣病の病因と、がん発症の病因に機構に共通の基盤があることを仮定し、その機序を明らかにすることである。

Kawasaki Wellbeing Cohortの264検体について、網羅的SNP解析を行い、慢性炎症が増悪因子である生活習慣病により影響を受ける慢性腎機能障害(CKD)のマーカとしてe-GFRを用いてQTL解析をしたところ、CA10(carbonic anhydrase 10)のイントロンにあるrs117326847が見いだされた。また悪性疾患とCKDの遺伝的背景の関連を慢性炎症の観点から検討した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、メタボリック症候群において亢進している酸化ストレスや慢性炎症に注目し、それらの亢進が乳癌の発症を促進させている可能性について検証した。また細胞機能や遺伝子多型の解析により、遺伝素因としての酸化ストレスや慢性炎症の亢進が発癌に関与していることの分子機序を明らかにすることで、将来のオーダーメイド治療の基礎となるものであり、日本における主要死因のうちの脳・心血管疾患と同時にがんの治療にも繋がることは、個人のQOLの改善だけでなく社会保障費の軽減など社会的意義も大きい。

研究成果の概要(英文)：This project aims to verify a hypothesis that there are common etiology of chronic inflammation between cancer and metabolic syndrome.

We analyzed comprehensive SNP of 264 cases.As a representative of metabolic syndrome,Chronic kidney disease(CKD)was used. CKD,which is surrogated by e-GFR, has relation with rs11732684 in the intron 10 of CA10(carbonic anhydrase 10) by QTL analysis.We also examined relations of genetic background between CKD and malignancy.

研究分野：腎臓病学 臨床遺伝学

キーワード：がん 生活習慣 慢性炎症 遺伝背景

## 1. 研究開始当初の背景

生活習慣病に属する高血圧、脂質代謝異常、インスリン抵抗性、肥満症等は、別々の独立した疾患ではなく、メタボリック症候群という共通の発症要因を有するグループに属する疾患群であり、共通の発症要因の一つに酸化ストレス及び慢性炎症の亢進があることが明らかにされつつある。

一方日本における乳癌の発生率は年々増加の一途を辿っており、1975年に比し、2002年の罹患率は約2倍に増加し更に増加傾向にある。その原因は、生活習慣の欧米化が一因とされているが、その具体的な機序は明らかにはなっていない。最近では癌の発生、進展に慢性炎症が関与していることが注目され、慢性炎症においてもやはり酸化ストレスは亢進していることが報告されてきた。

即ち、メタボリック症候群と乳癌には、共通する病因である酸化ストレスおよび慢性炎症の亢進が存在する。酸化ストレスの本態は活性酸素種(reactive oxygen species, ROS)であり、ROSは体内で代謝の過程で発生する一方、有害なROSを消去する系も存在し、通常ROSの体内でのレベルは低く抑えられている。われわれのグループでは、ヒト不死化リンパ芽球株を用いて、酸化ストレスは単に内臓脂肪肥満の結果として亢進しているだけではなく、むしろROSの産生能の差異が遺伝的に規定されており、ROSの産生能が亢進していることが、将来的な内臓脂肪肥満の原因である可能性を報告してきた(Hirao K, Maruyama T *et al.* Obesity Research and Clinical Practice 2010 4(2):e83-e90)。

またTNF $\alpha$ は、酸化ストレスを亢進させる炎症において中心的役割を果たすサイトカインの一つであるが、本態性高血圧の症例において、TNF $\alpha$ の受容体の遺伝子多型が正常血圧群と異なっていることを報告してきた(Eguchi T, Maruyama T, *et al.* Hypertens Res. 2009 Sep;32(9):775-9)。TNF $\alpha$ はそもそも腫瘍増殖に関わる分子として発見され、癌の進展に重要な分子であることは以前から明らかにされてきた。TNF $\alpha$ は局所に高濃度で作用させると抗angiogenicな作用があり、強力な抗腫瘍効果を示す(Lejeune FJ *et al.* Curr Opin Immunol 10 573-573 1998)一方、腫瘍の微小環境で慢性に分泌されるTNF $\alpha$ は腫瘍の発育を促進させる。TNF $\alpha$ -TNF $\alpha$ 受容体システムは腫瘍の局所において重要な働きを担っている。

このように、メタボリック症候群と乳癌において、酸化ストレスの亢進という共通した病因が存在し、それに関わる主要な分子として、ROSやTNF $\alpha$ がある。これらの分子は、メタボリック症候群や癌の結果として産生や発現が亢進しているだけではなく、むしろ各個体の遺伝素因に差異があり、そこに生活習慣という外因が加わって疾病が発病している可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究では日本で増加が著しい乳癌の症例を収集して、メタボリック症候群において亢進している酸化ストレスや慢性炎症に注目し、それらの亢進が乳癌の発症を促進させている可能性について検証する。また細胞機能や遺伝子多型の解析により、遺伝素因としての酸化ストレスや慢性炎症の亢進が発癌に関与していることの分子機序を明らかにすることで、将来のオーダーメイド治療の基礎となるデータを提供する。またこの研究により日本の三大死因のうちの2つの脳・心血管疾患だけでなく、残る1つの癌の発症も抑制しえる予防・治療法の開発につなげることを目的とする。

## 3. 研究の方法

[当初計画]

### (1)臨床データの蓄積

当大学および関連病院における乳癌症例を100例収集し、BMIを含む臨床データを整理し、データベースを構築する。なお対照群として職員健診で協力を得られたボランティア症例を用いる。

### (2)ROS産生能の測定

採血した検体からリンパ球を単離し、EBウイルスにより不死化リンパ芽球株を樹立する。その細胞株を用いて、細胞機能としてROSの産生能/消去能の測定、糖代謝及び脂質代謝について解析する。

細胞株からミトコンドリアを単離し、ミトコンドリアにおけるROSの産生を測定する。解析した遺伝子のかかわる細胞内情報伝達系の解析も行う。

### (3)遺伝子多型の解析

乳癌症例の末梢血リンパ球、切除標本または生検の組織からgenomic DNAを抽出し、遺伝子多型について検討する。遺伝子レベルとして酸化ストレスに関与する遺伝子多型の解析 ROS産生系(NADPHオキシダーゼ、NOSなど)、及び消去系(グルタチオンSトランスフェラーゼ(GSTM1、GSTP1)、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)、ペルオキシターゼなど)、ミトコンドリアでの酸化ストレスに関与するCYP1A1、SIRT1-3、の各遺伝子の多型と遺伝子の発現量の測定。TNFR2のイントロン4のCA繰り返し多型が乳癌の危険因子である可能性について検討する。エストロゲン受容体の発現の有無及びその遺伝子多型と乳癌のリスクを検討する。TNFファミリーに属するTRAILの遺伝子多型と乳癌のリスクの相関を検討する。解析した遺伝子の遺伝子多型からハプロタイプを構築する。

### (4)細胞機能と遺伝子多型の関連解析

ROS 代謝を中心とした細胞機能、細胞内情報伝達系の機能と、遺伝子多型の関連解析を行う。

これらの解析により、ROSの産生能が遺伝素因により規定されており、ROS産生が亢進している場合に乳癌の発症率が高く、メタボリック症候群の存在がそれを促進するという仮説を検証し、最終表現形-中間表現形(細胞機能)-遺伝子多型(ハプロタイプ)の関連解析から、将来の個別化医療の基礎となるデータを構築する。なお長期(5年、10年)に追跡調査を行い、生来のROSの産生能/消去能の違いが癌や内臓脂肪肥満を誘導するか否かについて検討を継続する。

#### [補助事業期間延長承認後計画]

研究代表者の転勤により研究に割けるエフォートが限定的になる等研究環境の変化がある一方、ゲノム解析の費用の減少によるより粒度の高い解析の可能性が出てくるなど、この3年間で状況が変わったため、計画を変更し、当初の研究テーマの成果を出し、さらに発展的な研究につなげるために、より精緻なゲノム解析と臨床データ解析実現のために、生化学データや既往歴など臨床情報が網羅されており、且つゲノムデータ解析の体制が確立している川崎 Well being Cohort の検体に解析対象を変更した。

#### 4. 研究成果

Kawasaki Well Being の 264 検体を用いて、Illumina 社 Infinium Asian Screening Array を用いた網羅的 SNP 解析を行った。身長、体重、BMI、腹囲、TCHO、TG、HDL、LDL、BS、HbA1c、NGSP、TP、ALB、BUN、CRTNN、UA、NA\_B、K\_B、Ca\_B、P\_B、TBIL 総ビリルビン、DBIL、AST、ALT、ALP、GTP、CHE、LDH、CRP、Insulin、WBC、RBC、Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、Plt、Neutrophils、Eosinophils、Basophils、Monocytes、Lymphocytes、CystatinC、eGFR について QTL 解析を行った。

生活習慣病として CKD(慢性腎臓病)の有無についてクレアチニンから eGFR を算出し、QTL 解析を行ったところ、CA10 (Carbonic Anhydrase 10)のイントロンに最も高い SNV を認めた。(図 1)

17	rs117326847	1.501e-06	1.557e-06	0.8178	0.8178	0.5586	0.5586	0.6252	1
17	17:49659374	2.295e-06	2.378e-06	1	1	0.7136	0.7136	0.6252	1

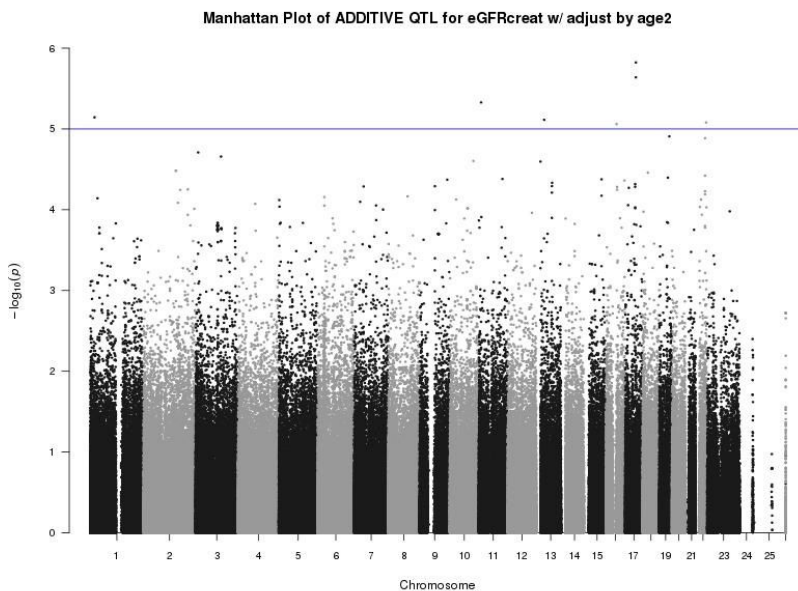


図 1

またその他の項目についても QTL 解析を行ったところ、総ビリルビン(TBIL)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、コリンエステラーゼ(CHE)について既報の遺伝子についてピークを認めており、本研究のサンプルにおいても解析がきちんとできていることがわかる。例として TBIL の結果を示す。(図 2)

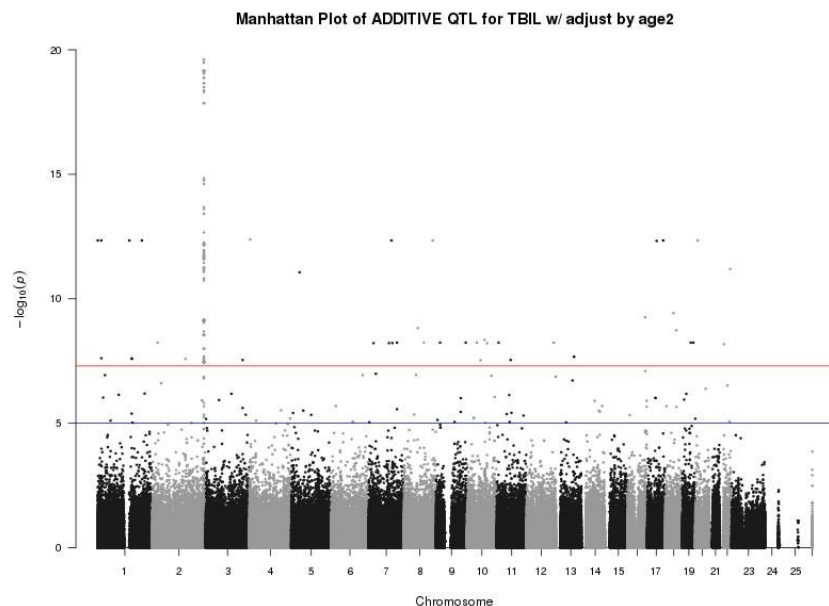


図 2

今後さらにこれらのデータを解析し、悪性疾患と生活習慣病の共通基盤としての慢性炎症が関わる機序について今後の解明につなげる。

#### 5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

#### 6．研究組織

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。