

Title	Regulation of 18F-FDG Accumulation in Colorectal Cancer Cells with Mutated KRAS(Abstract_要旨)
Author(s)	Iwamoto, Masayoshi
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2015-03-23
URL	http://dx.doi.org/10.14989/doctor.k18853
Right	
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

京都大学	博士（医学）	氏名	岩本 哲好
論文題目	Regulation of ¹⁸ F-FDG Accumulation in Colorectal Cancer Cells with Mutated <i>KRAS</i> (結腸直腸癌における <i>KRAS</i> 遺伝子変異と ¹⁸ F-FDG の集積機序についての研究)		
(論文内容の要旨)			
<p><i>KRAS</i> 遺伝子変異は結腸直腸癌の約 40%の症例に認め、抗 EGFR 抗体治療の効果予測因子として知られている。また ¹⁸F-fluorodeoxyglucose (FDG) を用いた positron emission tomography (PET) は、結腸直腸癌の病期診断、再発・転移診断、治療効果判定などに臨床で広く用いられている。さらに <i>KRAS</i> 変異型結腸直腸癌では <i>KRAS</i> 野生型に比し PET での FDG 集積が有意に高いことが臨床データの解析から明らかとなっている (Kawada K et al. <i>Clin. Cancer Res</i> 2012)。</p> <p>そこで本研究は、<i>KRAS</i> 変異型結腸直腸癌が FDG 集積を亢進する分子機構を解明することを目的とした。方法は、<i>KRAS</i> 遺伝子に変異をもつ結腸癌細胞株 HCT116、DLD-1 と、それぞれの <i>KRAS</i> の変異アレルを相同組換えで欠失させて野生型形質に変換した isogenic な細胞株をペアで用い、細胞内への FDG 集積とそれに関わる因子を比較した。</p> <p>細胞内への FDG 集積の律速因子とされる Glucose transporter-1 (GLUT1) と Hexokinase2 (HK2) の mRNA/蛋白発現は <i>KRAS</i> 変異型細胞株が <i>KRAS</i> 野生型よりいずれも高く、阻害剤を用いた <i>KRAS</i> の下流シグナルの検討では、GLUT1 の発現には MAPK 経路が、HK2 の発現には PI3K 経路がそれぞれ関与することが示唆された。<i>In vitro</i> での FDG 集積は <i>KRAS</i> 変異型細胞株で有意に亢進しており、siRNA を用いた発現抑制の実験結果から、FDG 集積亢進には変異型 <i>KRAS</i> と GLUT1 の発現が強く関与していることが明らかとなった。</p> <p>次に免疫不全マウスに <i>KRAS</i> 変異型/野生型細胞株をそれぞれ皮下移植して腫瘍を形成し、<i>in vivo</i> での検討を行った。小動物用 PET での撮影では、FDG 集積は <i>KRAS</i> 変異型腫瘍で <i>KRAS</i> 野生型に比し有意に亢進した。それぞれの腫瘍の免疫組織化学染色では、腫瘍の低酸素領域 (pimonidazol 染色領域)、Hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α) 発現領域と GLUT1 発現領域がよく一致した。</p> <p>そこで <i>KRAS</i> 変異型/野生型細胞株の HIF-1α の発現とその FDG 集積への関与を検討した。低酸素培養下での HIF-1α の発現は <i>KRAS</i> 変異型細胞株で有意に高く、GLUT1 の発現も同様であった。<i>In vitro</i> での FDG 集積は低酸素培養下で <i>KRAS</i> 変異型/野生型細胞株ともに亢進したが、siRNA を用いた HIF-1α の発現抑制下では <i>KRAS</i> 変異型細胞株でのみ FDG 集積が低下した。</p> <p>最後に当科で 2009 年 4 月から 2010 年 9 月までに切除した結腸直腸癌原発巣 51 症例の <i>KRAS</i> 遺伝子変異の有無と、術前 PET での FDG 集積、免疫組織化学染色による GLUT1, HK2, HIF-1α の発現の関係を検討した。<i>KRAS</i> 変異は全症例中 22 例 (43.1%) に認めた。<i>KRAS</i> 変異型群では <i>KRAS</i> 野生型群に比し術前 PET での FDG 集積が有意に高く、GLUT1, HIF-1α の有意な発現亢進を認めた ($P < 0.05$)。</p> <p>本研究により、結腸直腸癌では変異型 <i>KRAS</i> 遺伝子が主に GLUT1 の高発現を介して FDG 集積を亢進すること、また低酸素環境では変異型 <i>KRAS</i> 遺伝子による FDG 集積亢進に HIF-1α が関与することが明らかになった。このことより、FDG-PET は結腸直腸癌の <i>KRAS</i> 遺伝子変異の有無を非侵襲的に予測し、抗 EGFR 抗体を含めた治療方針の決定に寄与できる可能性があると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

KRAS 変異型大腸癌は抗 EGFR 抗体治療の効果が期待できず、*KRAS* 野生型と比較して PET での FDG 集積が高いことが臨床データの解析から明らかとなっている。本研究で申請者は、*KRAS* 変異型大腸癌が FDG を高集積する分子機構の解明を目的とし、ヒト大腸癌細胞株と臨床検体を用いて、*KRAS* 変異と FDG 集積の関係およびそれに関わる因子を検討した。

KRAS 変異型細胞株は野生型に比べ、*in vitro* の FDG 集積が亢進し、FDG 集積の律速因子である GLUT1, Hexokinase2 の発現が高かった。*In vitro* の FDG 集積は変異型 *KRAS* あるいは GLUT1 の knockdown で低下した。マウス皮下腫瘍モデルにおいて、FDG 集積は *KRAS* 変異型腫瘍で亢進し、腫瘍内の低酸素領域と HIF-1 α , GLUT1 の発現領域が相関した。低酸素培養下では、FDG 集積は *KRAS* 変異型/野生型ともに亢進し、HIF-1 α の発現は *KRAS* 変異型で高かった。HIF-1 α の knockdown では *KRAS* 変異型でのみ FDG 集積が低下した。

51 例の大腸癌手術検体の解析では、術前 PET での FDG 集積、HIF-1 α と GLUT1 の発現が *KRAS* 変異型群で有意に高かった。

以上の研究は FDG-PET による *KRAS* 遺伝子変異検出に関わる分子機構の解明に貢献し、大腸癌個別化医療の進展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 26 年 12 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日 年 月 日