

論文内容要旨

BACH1 promotes clear cell renal cell carcinoma progression by upregulating oxidative stress-related tumorigenicity

(BACH1 は、酸化ストレス関連腫瘍原性のアップレギュレーションを介して淡明細胞型腎細胞癌の進展に寄与する)

Cancer Science, in press.

主指導教員：日向 信之教授

(医系科学研究科 腎泌尿器科学)

副指導教員：神沼 修教授

(原爆放射線医科学研究所 疾患モデル解析)

副指導教員：林 哲太郎講師

(医系科学研究科 腎泌尿器科学)

武本 健士郎

(医系科学研究科 医歯薬学専攻)

【緒言】腎細胞癌は泌尿器科領域における代表的な癌腫であり、肥満、喫煙、高血圧、慢性腎臓病、血液透析、嚢胞腎などが危険因子とされる。これらの危険因子に共通する現象として、炎症や低酸素が挙げられる。炎症や低酸素は生体内において非特異的な反応であり、これらによって産生される活性酸素種(ROS)による影響が非常に重要であることが示されている。今回、我々は ROS によって誘導される酸化ストレス応答因子の重要な転写因子である **BTB domain and CNC homolog 1 (BACH1)** という分子に着目した。BACH1 は抗酸化酵素 **Heme oxygenase-1 (HO-1)** を抑制することで炎症を惹起することが明らかにされており、さらに BACH1 は近年の研究において、血管新生や悪性度亢進に深く関与する上皮間葉系移行(**EMT; epithelial mesenchymal transition**)にも関連していることが解明されている。

【目的】本研究では、炎症と深い関与が指摘されている腎細胞癌において、酸化ストレス応答因子 BACH1 が担う分子機構を解明することで、腎細胞癌の進展における新たな知見を探索することを目的とした。

【方法】(1) 当院で施行した淡明細胞型腎細胞癌の手術標本における BACH1 の免疫染色を行い、その臨床的意義について解析する。また、**public database** を用いて、得られた結果との整合性を検討する。(2) 腎癌細胞株(786-O, Caki-1, ACHN)において BACH1 の分子機能解析(遊走能・浸潤能評価)を行う。BACH1 ノックダウン細胞株での RNA シーケンスを用いて遺伝子発現プロファイルを評価する。(3) 腎癌細胞株および臨床検体における BACH1 と HO-1 との関連性を解析する。(4) マウス皮下移植モデルを用いて BACH1 の生体内における機能解析を行う。また、グルタチオン代謝を解析することで、酸化ストレス応答の関与を実証する。

【結果】(1) 腎摘除術標本 77 例のうち BACH1 陽性群は 31 例(40%)であり、陰性群と比較して有意に **high stage** であり、予後不良であった。また、BACH1 陽性群では血清炎症マーカーである C 反応性蛋白および好中球リンパ球比が有意に高値であり、臨床検体において炎症との関与が示唆された。TCGA(the cancer genome atlas)データベースでは、同様に BACH1 高発現症例は有意に **high stage** であり、予後不良であり、我々の臨床検討と同様の結果であった。(2) 今回使用した 3 種類全ての腎癌細胞株において BACH1 のノックダウンにより遊走能および浸潤能の有意な低下を認め、BACH1 過剰発現にて有意な上昇を認めた。また、RNA シーケンスでは BACH1 の発現は炎症反応、血管新生、**mTOR** シグナリング経路、EMT 関連経路との有意な関与が認められた。(3) BACH1 と抗酸化酵素 HO-1 の発現は腎癌細胞株においても負の相関が認められた。また、腎摘除術標本における HO-1 の免疫染色では、HO-1 陰性症例は有意に **pT stage** が高く、生命予後が悪い傾向にあった。この結果は BACH1 の検討と同様に **public database** を用いて整合性が得られた。(4) マウスモデルにおいては、BACH1 過剰発現腫瘍で腫瘍サイズは有意に大きく、ノックアウト腫瘍では有意に小さかった。また、採材腫瘍において BACH1 の発現は、グルタチオン代謝産物を評価した酸化ストレスレベルの指標である **GSSG/GSH** 比と有意な相関を示し、酸化ストレス応答との関与を示唆した。さらに、腫瘍進展のメカニズムを解析したところ、BACH1 過剰発現腫瘍では EMT 関連蛋白の発現が促進されており、腎細胞癌の進展や転移能への関与が想定された。

【考察】BACH1の免疫染色における臨床的検討においては、その発現が腫瘍の進展と深く関与しており、その結果として予後不良因子となることが示された。また、この結果は public database でも裏付けされた。本研究では、実際に患者の血清炎症マーカーと BACH1 の相関も示された。我々の知る限り、BACH1 と血清炎症マーカーとの相関を示した文献は他には無く新たな知見となり得る。in vitro における分子機能解析では、BACH1 は腎癌細胞株の浸潤能および遊走能と深く関与していた。また、抗酸化酵素 HO-1 と負の相関を示したことも腎細胞癌において BACH1 が炎症と深く関与し、悪性度亢進と関与している具体的機序の一因として説明可能である。さらに、免疫染色における HO-1 高発現症例は BACH1 とは対照的に予後良好な傾向にあった。この結果も public database にて裏付けされている。マウスモデルを使用した in vivo での解析においては、BACH1 発現は腫瘍増大の進展に深く関与しており、そのメカニズムとして酸化ストレス応答に関与した EMT 関連蛋白の発現促進への関与が示唆された。

【結論】腎細胞癌において BACH1 は予後不良因子であり、分子機能解析においても浸潤能・転移能制御に関与していた。その分子機構のひとつとして抗酸化酵素 HO-1 抑制を介した炎症の惹起が考えられる。また、生体内での腫瘍増大においては酸化ストレス応答を介した EMT 関連蛋白の発現促進への関与が示唆された。