



Title	Specific activation of glycolytic enzyme enolase 2 in BRAF V600E-mutated colorectal cancer
Author(s)	雪本, 龍平
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85350
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	雪本 龍平
論文題名 Title	Specific activation of glycolytic enzyme enolase 2 in BRAF V600E-mutated colorectal cancer (BRAF V600E大腸癌に特徴的な代謝メカニズムの解析)
論文内容の要旨 〔目 的〕 大腸癌におけるBRAF遺伝子変異の頻度は日本人で約5%であり、その中でもBRAF^{V600E}変異の頻度が最も高い。BRAF^{V600E}変異は、MAPKシグナル伝達経路の活性化、癌細胞の増殖、浸潤、血管新生を始め多様な悪性形質の獲得に寄与し、当該変異を有する大腸癌の予後は極めて不良であることが知られている。現在、BRAF^{V600E}変異陽性大腸癌に対する様々な治療が試みられているが、決定的な治療法は未だ確立されていない。一方、癌細胞に特徴的な代謝メカニズムとして、低酸素状態下でも解糖系を亢進させ安定的なエネルギー産生を実現させるWarburg効果が知られている。この解糖系亢進のメカニズムに、各種の解糖系酵素やがん遺伝子、がん抑制遺伝子が関与することがわかっているが、BRAF^{V600E}変異がこのメカニズムにどのような影響を及ぼしているのかは解明されていない。そこで我々は、癌代謝の観点からBRAF^{V600E}変異大腸癌の特徴を明らかにし、新規治療標的を同定することを目的とした。 〔方法〕 The Cancer Genome Atlas (TCGA)のデータベースより、BRAF^{V600E}変異症例において特徴的な代謝遺伝子プロファイルを解析し BRAF^{V600E}変異大腸癌で特異的に発現亢進している候補遺伝子を抽出した。解析結果をもとに、2012年度に大阪大学にて大腸癌と診断され手術が施行された BRAF/RAS 変異が未確定の 121 例と BRAF/RAS 変異が確定している 29 例 (BRAF^{V600E}変異症例:9 例、RAS 変異症例:10 例、BRAF/RAS 野生型症例:10 例)を用いて免疫組織化学染色にて、候補遺伝子と BRAF 変異状態の関連を調査した。In vitro においては、大腸癌細胞株 (RKO, HT29, DLD1, HCT116) を使用し、RNA 干渉、レンチウイルスによる強制発現による候補遺伝子の細胞における機能解析を行った。また、BRAF^{V600E}変異が下流のシグナル伝達に与える影響を明らかにするため、BRAF^{V600E}阻害剤の投与における候補遺伝子の発現変化を調査し、そのうえで両者を介在する発現調節因子の探索を行った。最後に、候補遺伝子の発現が既存の治療法の一つである BRAF^{V600E}阻害剤の感受性に与える影響を調べた。 〔成績〕 TCGAのデータベースより大腸癌481症例を抽出し、代謝関連遺伝子でクラスタリングしたところ、BRAF^{V600E}変異大腸癌の多くが同じような代謝プロファイルを持っていることが分かった。その中で、BRAF^{V600E}変異大腸癌とそれ以外の大腸癌で発現量に差があり、予後と相関している遺伝子として2phosphoglycerateをphosphoenolpyruvateに変換する重要な役割を担う解糖系遺伝子ENO2に着目した。BRAF/RAS変異が診断されている症例を含む150例の臨床検体を用いた免疫組織化学染色を行ったところ、BRAF^{V600E}変異陽性大腸癌は、BRAF^{V600E}陰性大腸癌と比較しENO2発現が有意に高い傾向にあった(P-value<0.05)。大腸癌細胞株を用いた検討では、BRAF^{V600E}変異陽性大腸癌細胞株において、BRAF^{V600E}陰性大腸癌細胞株と比較してENO2が細胞増殖能・遊走能に強く関与していることが示唆された。さらにBRAF^{V600E}選択的阻害剤ベムラフェニブをBRAF^{V600E}変異大腸癌細胞株に投与したところ、ENO2発現が45%程度の低下を認めた。そのため、BRAF^{V600E}がENO2発現の調節に関わる因子の一つであることが示唆された。次に、BRAF^{V600E}とENO2を介在するメカニズムとして転写因子複合体AP-1を構成する分子の一つである転写因子FOSL1に着目した。BRAF^{V600E}変異陽性大腸癌細胞株にベムラフェニブを投与したところFOSL1の発現低下が誘導されることが分かった。さらにFOSL1の発現抑制によりENO2の発現が抑制されることが確認された。以上の結果より、BRAF^{V600E}変異が転写因子FOSL1の活性化を誘導し、ENO2発現の亢進につながると考えられた。最後にENO2発現抑制は、ベムラフェニブの感受性を有意に増強させることがわかった。これは、ENO2の発現抑制がMAPKシグナルの抑制に働き、同経路を上流から抑制するベムラフェニブと協働して作用した結果と考えられた。 〔総 括〕 解糖系遺伝子ENO2が、BRAF^{V600E}陽性大腸癌において特異的に発現亢進していることを示した。さらに、ENO2がBRAF^{V600E}陽性大腸癌の悪性形質の形成に関わることを明らかにした。以上の結果より、ENO2がBRAF^{V600E}変異大腸癌における新たな治療標的になりうると考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 雪本 龍平			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	江口 英利
	副 査	大阪大学教授	金井 好寛
	副 査	大阪大学教授	小川 和彦
論文審査の結果の要旨 大腸癌の中で、BRAF V600E変異陽性症例は化学療法の効果乏しく極めて予後不良である。癌代謝の基本は、安定的なエネルギー産生を実現させることであるが、BRAF V600E変異が癌代謝にどのような影響を及ぼしているかは解明されていない。本研究では、癌代謝の観点からBRAF V600E変異陽性大腸癌の特徴を明らかにし、新規治療標的を同定することを目的とした。 大規模なin silico解析をもとに解糖系遺伝子ENO2に着目し、この分子がBRAF V600E変異陽性大腸癌に高発現していることを大腸癌臨床検体での免疫組織学的染色にて確認した。細胞レベルでは、ENO2の癌悪性形質獲得における役割と共にBRAF V600E変異によるENO2発現誘導のメカニズムを明らかにした。さらに、ENO2発現を抑制することにより、既存治療の効果が有意に増強されることが明らかとなり、ENO2がBRAF V600E変異陽性大腸癌における新たな治療標的になる可能性が示唆された。本研究結果は、2021年5月 Cancer Science誌に発表されており、学位の授与に値すると考えられる。			