



Title	エピゲノム異常に基づいた肝発癌予測システムの開発
Author(s)	西田, 直生志
Citation	癌と人. 2013, 40, p. 36-37
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/24896
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

エピゲノム異常に基づいた肝発癌予測システムの開発

西田 直生志*

肝細胞癌は肝臓に発生する悪性腫瘍であり、本邦の悪性新生物の部位別死亡率では男性で4番目、女性では5番目にランクされています。この悪性腫瘍は、大部分が慢性肝炎、肝硬変をベースに発生することで知られています。日本の慢性肝炎や肝硬変の原因の大部分は慢性C型肝炎や慢性B型肝炎などのウイルス型肝炎やアルコール性肝障害ですので、これらの肝炎ウイルスの有無や飲酒歴とそれに基づく肝臓の線維化の程度を検査することにより、肝細胞癌のリスクをある程度推定することができます。しかし近年、糖尿病などの生活習慣病や脂肪肝を基盤とした非アルコール性脂肪性肝疾患が肝発癌のリスクであることが明らかとなり、これらの非ウイルス性肝疾患から発生する癌が増加しつつあります。加えて、高齢者の慢性C型肝炎では、肝臓の線維化が軽い例から発生する肝細胞癌が増加しています。従って、肝炎ウイルスの有無や肝線維化の検査に頼らずに肝発癌の高リスク群を絞り込み、治療介入することが肝癌関連死を減少させる上で重要であると考えられます。これらの背景より、私たちは、肝癌発生の分子機序に基づいた発癌リスク評価システムを確立することを目的としてこの研究を開

始しました。すなわち、肝細胞癌の発生に重要と思われる遺伝子異常を絞り込み、慢性肝疾患の肝臓にそれらの遺伝子異常が検出された場合、発癌イベントのリスクとなり得るかを検証しました。

一方、癌は細胞の増殖や分化を調節する遺伝子の異常が引き金になっていると考えられています。これらの遺伝子の異常には、DNAの塩基配列の異常とクロマチンやDNAへの後天的な修飾の異常に大別することができます。後者をエピゲノムの異常と呼び、これにはヒストン修飾やDNAメチル化の変化が含まれます。DNAメチル化とその領域のヒストン修飾は密接に関連しており、我々は肝細胞癌に生じるDNAメチル化異常に注目しました。その理由は、以前からの解析により、肝細胞癌では、DNAの塩基配列の異常よりもメチル化の異常の方が高頻度で起こっていると思われたからです。しかし癌組織では様々な遺伝子にDNAメチル化が認められ、どのメチル化が肝発癌に重要な役割を示しているか明確ではありません。そこで我々は、肝発癌初期から高レベルのメチル化が認められる遺伝子は、発癌にインパクトがあると予想しました。すなわち、異常メチル

化遺伝子をもつ細胞が、増殖に有利に働く場合、その細胞の増殖スピードは他の細胞より早いため、結果としてできる腫瘍は早期の段階から、該当する遺伝子に高レベルのメチル化を示すと予想出来るからです。この為に、177例の肝細胞癌とその非癌部を用い、27種の癌抑制遺伝子プロモーターのメチル化レベルをCOBRA法で定量し、非癌部と比較して癌部で有意にメチル化レベルが高い遺伝子を選択しました。一方、肝細胞癌を分化度、腫瘍径、動脈濃染の有無により“早期癌”、“軽度進行癌”、“高度進行癌”に分類し、27種の癌抑制遺伝子の中から“早期癌”において顕著にメチル化レベルの高いグループを抽出しました。高分化、2cm以下、動脈濃染なしを早期癌と定義した場合、8種の癌抑制遺伝子において、非癌部と比較して早期癌で顕著な高メチル化が認められ($p < 0.0001$)、またこれらの8種の遺伝子はメチル化レベルを用いた階層クラスター解析により明確なクラスターを形成しました。加えて、これらはROC解析によって癌部/非癌部肝のメチル化レベルが大きいう特徴があり、肝細胞癌にユニークな遺伝子のメチル化であると考えられました。又、11種の肝癌細胞株を用いた解析でも、これらの遺伝子に高レベルのメチル化が認められ、その遺伝子発現とは相関することが示され、これらの遺伝子のプロモーター領域の異常メチル化が、その下流の遺伝子の発現異常と関連することが明らかとなりました。一方、ビーズアレイシステムを用い、遺伝子プロモーター内の25,978箇所のCpG部位を解析したところ、先ほどの8種の癌抑制遺伝子の内、5種はHCV陽性肝細胞癌と非ウイルス性肝細胞癌で共通に異常メチル化を生じる遺伝子であることが明らかとなりました。すなわち、これらの遺伝子のメチル化は、肝細胞癌の原因に関係なく発癌に関わることが予想されました。

次に、これら8種の癌抑制遺伝子のメチル化の有無を、128例のC型慢性肝炎生検組織でMethyLight法を用いて検討し、その後の発癌との関連を検討した。生検組織で検出される異常メチル化遺伝子数は、その後の発癌までの期間の短縮と極めて良く相関し($p < 0.0001$ log-rank test)、年齢、性別、線維化ステージを共変量とした多変量解析でも、異常メチル化遺伝子数は発癌までの期間に対して独立した因子として抽出されました(HR=5.21, 95% CI=2.25-11.79, $p=0.0002$)。また異常メチル化遺伝子数は、発癌までの期間の短縮と量依存的な関係が認められた。

今回の研究成果により、我々が抽出した8種類の癌抑制遺伝子の異常メチル化は、(1)非癌部と比較し早期肝癌の段階から高レベルのメチル化が観察され、(2)肝癌未発症のC型慢性肝炎において、それらのメチル化が出現した場合、発癌までの期間が短いことが明らかにされました。また、これらの遺伝子の異常メチル化はC型肝炎の有無に関わらず、発癌に寄与すると考えられます。これらの事実より、慢性肝疾患におけるこれらのメチル化の増加は、肝炎ウイルスや線維化ステージを凌ぐ発癌の危険因子であると考えられ、肝発癌の予測に有用なバイオマーカーとなり得ると考えられました。今後は、さらに多数の組織を解析し、より明確な結論を出したいと考えております。

最後になりましたが、この研究の遂行にあたり、貴重な研究助成を賜りました大阪癌研究会にこの場をお借りして深謝申し上げます。貴財団の益々のご発展を祈念申し上げます。

*近畿大学医学部消化器内科
平成23年度一般学術研究助成金交付者