



Title	Altered expression profiles of clock genes hPer1 and hPer2 in peripheral blood mononuclear cells of cancer patients undergoing surgery
Author(s)	安座間, 隆
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49032">https://hdl.handle.net/11094/49032</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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

氏名	安 座 間 隆
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 22319 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 20 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Altered expression profiles of clock genes <i>hPer1</i> and <i>hPer2</i> in peripheral blood mononuclear cells of cancer patients undergoing surgery (癌患者において手術後末梢血単核球中の時計遺伝子 <i>hPer1</i> 、 <i>hPer2</i> の発現プロファイルは変化する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 門田 守人
	(副査) 教 授 杉本 壽 教 授 真下 節

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

体内時計は哺乳類では視床下部の視交叉上核に存在し、睡眠覚醒サイクル、体温、血圧、ホルモン分泌等、種々のサーカディアンリズムを制御している。最近、体内時計の分子機構の解明が進み、*Per1*、*Per2* 等の時計遺伝子が重要な関与をしていることが明らかとなった。時計遺伝子は視交叉上核のみならず、多くの末梢組織にも発現しており、末梢血単核球 (PBMCs) 中にも発現していることが確認されている。体内時計は単に時間を刻むのみならず、内外の環境変化に応じて自らの時計の位相を変化させることで環境変化に順応する機能を持っている。術後患者ではしばしば不眠やせん妄といったサーカディアンリズムの異常を示すことがあるが、周術期患者の体内時計に関してこれまで時計遺伝子発現レベルでの検討はない。本研究は周術期に時計遺伝子発現の日内リズムがどう変化するかを調べることを目的とし、手術侵襲のきわめて大きな手術の代表である食道癌手術施行患者と低侵襲手術である早期胃癌に対する腹腔鏡補助下幽門側胃切除術施行患者を対象に、PBMCs 中での時計遺伝子 *hPer1* と *hPer2* の発現プロファイルおよび血漿中のメラトニンとコルチゾールを測定し比較した。

#### 【方法】

食道切除術を施行した食道癌患者 9 人、腹腔鏡補助下幽門側胃切除術を施行した早期胃癌患者 9 人を対象として、文書による同意を得た後、以下の検査を行った。術前と術直後に 20 時から 4 時間毎に 6 回血液サンプルを採取した。血漿中のメラトニンとコルチゾールは radioimmunoassay によって測定した。PBMCs を血液から分離し、PBMCs 中の時計遺伝子 *hPer1*、*hPer2* の発現プロファイルを real-time RT-PCR 法によって測定した。

リズム解析はコサイナー法を用いて行い、位相 (リズムのピークとなる時刻) の変化は Student's t-test を用いて比較した。概日リズム発現パターンの変化は分散分析を用いて比較した。

#### 【成績】

患者背景では食道癌患者の方が早期胃癌患者と比較し、有意に手術時間と麻酔時間が長く、出血量も多かった。年

齢、性別、癌の進行度に関しては両群で差は認めなかった。

食道癌患者ではメラトニン濃度は手術後低下し、概日リズム発現パターンは術前術後で有意に変化した ( $p=0.0320$ )。コルチゾール濃度は手術後増加するとともに、位相は術前  $8:31\pm1:45$  から術後  $13:11\pm1:13$  に変化し ( $p=0.0025$ )、概日リズム発現パターンは術前術後で有意に変化した ( $p=0.0006$ )。*hPer1* の位相は術前  $6:19\pm1:50$  から術後  $13:59\pm0:59$  に変化し ( $p=0.0003$ )、*hPer2* の位相も術前  $5:01\pm2:59$  から術後  $19:30\pm2:15$  に変化した ( $p<0.0001$ )。時計遺伝子の概日リズム発現パターンは *hPer1* ( $p=0.0021$ )、*hPer2* ( $p=0.0002$ ) 共に術前術後で有意に変化した。

早期胃癌患者では手術によりメラトニン濃度は低下し、概日リズム発現パターンも術前術後で変化した ( $p<0.0001$ )。コルチゾールの概日リズム発現パターンは手術後変化したが ( $p=0.0002$ )、有意な位相の変化はみられなかった (術前、 $8:56\pm1:06$ ；術後、 $13:08\pm3:28$ ； $p=0.1123$ )。*hPer1* の位相は手術により  $7:47\pm1:27$  から  $12:33\pm1:30$  に変化し ( $p=0.0043$ )、*hPer2* の位相も  $6:49\pm1:59$  から  $13:39\pm3:06$  に変化した ( $p=0.0171$ )。時計遺伝子の概日リズム発現パターンは *hPer1* ( $p=0.0328$ )、*hPer2* ( $p=0.0011$ ) 共に術前術後で変化した。

今回測定した4つのパラメーターの概日リズム発現パターンを食道癌患者と早期胃癌患者で比較した。術前の発現パターンの比較では、いずれのパラメーターも両群間で差はなかった。術後の発現パターンの比較では、*hPer2* の発現パターンにのみ両群間で有意差がみられた ( $p=0.0013$ )。

### 【総括】

本研究から手術侵襲により末梢組織の時計遺伝子 *hPer1*、*hPer2* の概日リズムが変化することが示唆され、手術侵襲は内分泌ホルモンの分泌のみならず末梢組織の体内時計にも影響を与えると考えられた。*hPer2* の位相変化は食道切除術の方が腹腔鏡補助下幽門側胃切除術より大きく、侵襲の大きな手術の方が概日リズムに与える影響は大きいと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

体内時計は、睡眠覚醒サイクル、体温、血圧、ホルモン分泌等、種々の生命活動においてみられるサーカディアンリズムの構築に関与している。体内時計は単に時間を刻むのみならず、内外の環境変化に応じて自らの時計の位相を変化させることで環境変化に順応する機能も持っている。近年、リズムの発振は時計遺伝子の feedback loop 機構により制御されることが明らかとなった。術後患者ではしばしば不眠やせん妄といったサーカディアンリズムの異常を示すことがあるが、周術期患者の体内時計に関してこれまで詳細な研究はない。本研究は、手術侵襲の極めて大きな食道癌手術施行患者と低侵襲手術である早期胃癌に対する腹腔鏡補助下幽門側胃切除術(LADG)施行患者を対象に、メラトニン、コルチゾールの日内変動、末梢血単核球中の時計遺伝子 *hPer1* と *hPer2* の発現プロファイルを比較し、手術侵襲の体内時計に与える影響を明らかにしようとしたものである。

本研究の結果、食道癌患者、早期胃癌患者とも、メラトニン、コルチゾールのみならず時計遺伝子 *hPer1*、*hPer2* の概日リズム発現パターンが術前術後で有意に変化すること、時計遺伝子 *hPer1*、*hPer2* の位相は術前術後で有意に変化し、*hPer2* の術後の位相の変化は食道切除術の方が LADG より大きいことが明らかとなった。これらの結果は、手術侵襲は内分泌ホルモンと同様に末梢組織の体内時計にも影響を与えること、また侵襲の大きな手術の方が体内時計に与える影響がより大きいことを示している。

従来、侵襲に対する生体反応のメカニズムは、神経・内分泌反応やサイトカインネットワークに代表される免疫反応が中心であったが、今後は体内時計機構も含めた新しい観点からの検討の必要性が示唆される。本研究は、侵襲学の新しい知見に寄与するものであり、学位に値する業績と考えられる。