

タイトル	Genome wide DNA methylation analysis in obese women predicts an epigenetic signature for future endometrial cancer
別タイトル	肥満女性におけるエピジェネティックな領域におけるゲノムワイドDNAメチル化解析による将来的な子宮内膜癌の予測
作成者（著者）	長島, 克
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：木下俊彦 / タイトル：Genome wide DNA methylation analysis in obese women predicts an epigenetic signature for future endometrial cancer / 著者：Masaru Nagashima, Naofumi Miwa, Hajime Hirasawa, Yukiko Katagiri, Ken Takamatsu, Mineto Morita / 掲載誌：Scientific Reports / 巻号・発行年等：23;9(1):6469, 2019
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第929号
学位記番号	甲第634号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
DOI	info:doi/10.1038/s41598 019 42840 4
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD50843429

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

長島 克より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 634 号

学位申請者 : なが しま まさる
長 島 克

学位論文 : Genome-wide DNA methylation analysis in obese women predicts an epigenetic signature for future endometrial cancer

(肥満女性におけるエピジェネティックな領域における
ゲノムワイドDNAメチル化解析による将来的な子宮内膜癌の
予測)

著 者 : Masaru Nagashima, Naofumi Miwa, Hajime Hirasawa, Yukiko Katagiri, Ken Takamatsu, Mineto Morita

公表誌 : Scientific Reports 9 (1) : 6469, 2019

論文内容の要旨 :

[背景および目的] 近年、我が国における子宮内膜癌の罹患件数は増加し続け、女性では乳癌、大腸癌（結腸癌、直腸癌）、肺癌、胃癌、膵癌に次いで7番目に多い癌である（国立がん研究センター2014年統計）。癌発症時に転移薬が存在する症例も多く、子宮内膜癌の病因の解明および早期発見方法の開発の社会的必要性は高い。子宮内膜癌のハイリスク因子として、肥満、糖尿病、長期ホルモン暴露が広く知られているものの、それらにより子宮内膜癌発症に繋がる分子機序は不明である。子宮内膜癌においては、遺伝子異常以外にエピジェネティクス異常が存在することが知られる。エピジェネティクス異常では、DNAのメチル化異常が代表的であり、ライフスタイル等により、遺伝子および近傍領域のDNAのメチル化程度変化が生じる細胞メチル化パターン異常・疾患発症に繋がることから知られる。そこで、本研究においては、未閉経症例の子宮内膜上皮細胞におけるメチル化パターンを網羅的解析し、将来の子宮内膜癌発症に関連するエピジェネティクス異常を抽出し、肥満から子宮内膜癌発症に繋がる分子機序を解明することを目的とした。

[対象および方法] 東邦大学医療センター大森病院産婦人科外来を受診した女性（25歳から45歳）を対象とし、BMI30以上を肥満群、BMI25以下を正常群と分類し比較解析した。すべての症例において、病理検査上子宮内膜過形成はなく未病状態であることを確認した。本研究は倫理委員会の承認を得、患者本人の書面による同意了承の上、実施した。子宮内膜細胞診の遺残検体を

用い子宮内膜上皮細胞を単離培養し、全培養細胞の中で子宮内膜上皮細胞が80%以上の試料よりゲノムDNAを抽出し、Infinium MethylationEPIC アレイを用い、約85万箇所(862,427)のDNAメチル化状態を網羅的に解析した。初期子宮内膜癌(Stage-I類内膜腺癌 Grade-I)メチル化アレイデータについては、National Cancer Institute (NCI)ポータルサイトより得た後、GenomeStudio (イルミナ社)を用い統計解析した。

【結果および考察】 肥満症例におけるメチル化変動領域(Differential methylation region, DMR)の9割以上は、異常低メチル化を示し、異常高メチル化は僅かであった。遺伝子プロモーター領域(Refseq gene;RefGene)について解析したところ、592箇所のDMRが認められ、Gene Ontology(GO)およびPathway解析により、(i)ピリミジン代謝経路、(ii)Epstein-Barr (EB)ウイルス経路、(iii)B細胞シグナリングに濃縮していることが分かった。肥満症例にみられたDMRと初期子宮内膜癌におけるDMRを比較解析したところ、54箇所のDMRが抽出された。それらについて、GOおよびPathway解析したところ、(i)EBウイルス経路、(ii)B細胞シグナリングに濃縮し、そのうち、4遺伝子の異常低メチル化の程度は、初期子宮内膜癌の方が大きいことが分かった。EBウイルスは、日本人のほぼ9割が感染しており、本症例の女性も感染していた可能性は高い。肥満状態が持続することにより、子宮内EBウイルス経路がエピゲノム修飾され、異常メチル化が進むことにより癌細胞発生に寄与する可能性が考えられる。最近、EBウイルス感染と胃癌発症の関与が示唆されていることも(Kaneda et al., Cancer Sci 2008)、本研究の発見を考察する上で興味深い。一方で、B細胞シグナリングは様々な転写因子の制御を受けることが知られる。本研究では、ATF2、EIF2AK4が異常低メチル化を示した。

【結語】 本研究では、肥満症例の子宮内膜上皮の網羅的エピゲノム解析を行い、炎症シグナル遺伝子等のDMRを抽出することに成功した。また、それらDMRと初期子宮内膜癌におけるDMRを比較解析し、両方に重複する遺伝子を抽出した。重複したDMRの異常メチル化程度は、癌組織において増大していることから、肥満状態が持続することで異常メチル化が進展し、癌細胞発生に寄与する可能性が示唆された。癌細胞発生に関する詳細な分子機序は未だ明らかではなく、将来の研究が必要であるものの、本研究成果は、癌発症のバイオマーカーや創薬ターゲット開発に有用であると考えられる。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 634 号	氏 名	長 島 克
学位審査担当者	主 査	木 下 俊 彦
	副 査	澁 谷 和 俊
	副 査	弘 世 貴 久
	副 査	内 藤 篤 彦
	副 査	中 野 裕 康

学位論文の審査結果の要旨 :

子宮内膜癌発症には肥満の関与が知られているが、肥満と子宮内膜上皮のエピジェネティック異常の関連性は明らかではない。本研究はこの関連性を明らかにすることを目的とした。子宮内膜細胞診の遺残検体から子宮内膜上皮細胞を単離培養し、全培養細胞の中で子宮内膜上皮細胞が 80%以上の試料よりゲノム DNA を抽出し Infinium MethylationEPIC を用いて DNA メチル化状態を解析した。結果：肥満女性の子宮内膜で全体の 1-2%程度(592 遺伝子) のメチル化変動領域 (Differential methylation region, DMR) を認め、その 90%程度で低メチル化傾向を示した。DMR を示した 592 遺伝子と、NIH のデータベースから抽出した子宮体癌(類内膜腺癌グレード 1 進行期 I 期)の症例ですでに分かっている DMR 39804 遺伝子との間に、54 の重複する遺伝子を抽出した。初期子宮体癌と重複する DMRs において pathway 解析により、EB ウイルス、B 細胞シグナリングに関与する遺伝子が抽出された。それらの 4 遺伝子において、肥満群と比較すると初期子宮内膜癌では有意に低メチル化傾向を示した。結論：未病状態の各臓器細胞において誘発因子の暴露によって DNA メチル化変異を引き起こすことが知られる。正常子宮内膜上皮細胞遺伝子においても肥満の暴露によって異常メチル化を示す領域が存在することを明らかにした。肥満において子宮内膜上皮細胞の異常低メチル化 DNA の増加が、子宮内膜癌の発症に繋がる可能性が示唆された。

学位審査会においては審査委員から子宮内膜上皮細胞培養の純度が保たれていたか、内膜上皮細胞の検体数が少ないのではないかと指摘があったが、申請者は純度は 80%以上であったことを示し、検体数は少ないが統計学的には有意であったことを述べた。子宮内膜上皮細胞に関する病理学的証明に関した質問に、細胞質が CK18 に染色されることから正当性を示した。今後の研究の展開に関しては、メチル化異常を起こしている遺伝子を研究することで子宮内膜癌の発癌機序の解明、創薬に役立つ可能性があるとして述べた。本研究の独自の問題提起と独創性を求めたところ、従来とは異なり子宮体癌の発生母地であるヒトの子宮内膜上皮細胞の primary culture を用いて子宮内膜癌細胞との関連性を証明したことに新規性と独創性があると述べた。

申請者は研究背景、研究方法、研究結果を整理と述べたうえで論理的に考察を加え、かつ各質問に対しても的確に回答した。以上より本論文は独創性と将来性を有した論理的論文であると認める。