

京都大学	博士 (医学)	氏 名	前田 将宏
論文題目	Novel epigenetic markers for gastric cancer risk stratification in individuals after <i>Helicobacter pylori</i> eradication (ヘリコバクター・ピロリ菌除菌後健康人の胃発がんリスク層別化のための新規エピゲノムマーカー)		
(論文内容の要旨) 【背景】 リスク層別化は胃がん早期発見に非常に重要である。日本では胃がん予防を目的にピロリ菌関連慢性胃炎に対するピロリ菌除菌療法が保険適応となり、除菌後健康人が急増しており、これらの人々に推奨される定期的観察は個人的・社会的負担となるため、リスク層別化システムの構築は喫緊の課題である。 DNA メチル化異常は、ピロリ菌感染により正常胃粘膜に誘発され、その蓄積の程度は発がんリスクと強く相関することが知られる。その後、多施設共同前向き臨床研究において、胃粘膜に蓄積したメチル化異常の定量的解析 (<i>miR-124a-3</i>) により内視鏡治療後胃がん患者における異時性多発胃がんのリスク層別化が可能であることが証明された。このエピゲノムリスク診断は初発胃がんのリスク層別化にも有望と考えられる。そこで本研究では、除菌後健康人における初発胃がんのリスク層別化のための有用性の高い新規エピゲノムマーカーの樹立を試みた。 【方法】 胃幽門前庭部生検検体 (スクリーニングセット、バリデーションセット) をピロリ菌除菌後健康人の正常胃粘膜 (12 例、63 例) と胃がん高危険度群である胃がん患者の非がん部 (12 例、82 例) から採取した。またスクリーニングにおいて混入血球細胞および加齢の影響を除くため、健康人血液検体 3 検体とピロリ菌未感染者 (若年者・高齢者各 4 例) の胃粘膜検体を採取した。発現解析には若年者の現感染者、未感染者各 4 例の胃粘膜生検検体を用いた。ゲノム網羅的メチル化解析は BeadArray (Infinium 450K)、定量的個別メチル化解析はバイサルファイトパイロシークエンシング法及びメチル化特異的 PCR で行い、発現解析はマイクロアレイ (GeneChip) にて行った。 【結果】 1. マーカースクリーニング スクリーニングセットを用いてゲノム網羅的メチル化解析を行った。二つのアルゴリズムに基づいて、血液で低メチル化を示し、加齢の影響を受けない胃がん患者の胃粘膜に特異的な高メチル化領域を探索し、57 領域を新規マーカー候補として同定した。 2. バリデーション 解析対象の 9 領域において、バリデーションセットを用いて定量的メチル化解析を行ったところ、除菌後のメチル化レベルは胃がん患者胃粘膜において有意に高値を示した。ROC 解析では AUC: 0.70-0.80、オッズ比 (OR) : 5.43-23.41 と <i>miR-124a-3</i> (AUC: 0.74、OR: 8.0) と比べ同等以上の性能を示した。 3. メチル化の意義 DNA メチル化異常は、低発現遺伝子に起こりやすいことが知られる。マーカー遺伝子の大部分は、正常胃粘膜でピロリ菌感染に関わらず非常に低発現であり <i>passenger methylation</i> と考えられた。2 マーカー遺伝子 (<i>JAM2</i> , <i>ELMO1</i>) は中等度の発現を認め、発がんに寄与している可能性が残った。			

4. 他の胃がんリスク因子との独立性

胃がんのリスク因子である胃粘膜萎縮範囲及び性別とマーカーのメチル化レベルとの相関は認められなかった。

【考察と結論】 本研究はピロリ菌除菌後対象者の中で高危険度群である胃がん患者を高精度に識別できる有用性の高いエピゲノムマーカーを樹立した。マーカーはエピゲノム傷害全体を反映し、個別の機能に関わらずメチル化高感受性によりその性能を発揮していると考えられる。これらのマーカーは現在進行中のピロリ菌除菌後健康人を対象とした多施設共同前向き臨床研究に用いられる予定であり、エピゲノムリスク診断による胃がん高危険度群の層別化は、がん検診の最適化に役立つと期待される。

(論文審査の結果の要旨)

ピロリ菌除菌療法の保険適用拡大は胃がん予防を推進すると同時に、急増する除菌後健康人のマネージメントという新たな課題を顕在化させた。申請者は、正常胃粘膜に蓄積したゲノムの変化、特に DNA メチル化異常の程度は胃がんリスクと相関するという知見に基づき、除菌後健康人でのエピゲノムリスク診断の臨床実用化を目指して、新規メチル化マーカーを同定し、その生物学的意義を検討した。

ピロリ菌除菌後のがん・非がん患者の胃粘膜生検検体 (計 181 人) を用いて BeadArray によるゲノム網羅的 DNA メチル化解析を行い、加齢の影響を受けにくく慢性炎症によるメチル化高感受性領域を抽出するための Large difference 法、iEVORA 法を用いたスクリーニングから、統計学的にも有意な 9 マーカーを同定した。これらはこれ迄に使用したマーカーである *miR-124a-3* と同等以上の感度・特異度を示した。また、マーカー同士の高い相関から、メチル化レベルが胃粘膜のゲノム全体のエピゲノム傷害を反映することで高いリスク予測能を示すことも明らかにした。

新規マーカーは現在進行中の除菌後健康人を対象とした臨床研究に大きく貢献すると期待できる。さらにゲノム全体でのエピゲノム異常蓄積の定量的評価という新しい概念は他のがんにも応用可能と考えられ、学術的な価値が高い。

以上の研究はエピゲノムリスク診断の実用化に貢献し、ゲノム全体のエピゲノム傷害を測定するという概念の樹立に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 5 月 31 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降