

機関番号：12602

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390169

研究課題名（和文） エピジェネティック疫学の疾病予防への応用

研究課題名（英文） Epigenetic epidemiology of gastric cancer

研究代表者

湯浅 保仁（YUASA YASUHITO）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授

研究者番号：80111558

研究成果の概要（和文）：

血液白血球 DNA のメチル化の程度を定量的に測定し、がんのバイオマーカーになりうるか、さらに生活習慣がメチル化にどう影響するかを解析した。その結果、血液白血球 DNA における IGF2 遺伝子のメチル化程度は、がんのリスクと予後のバイオマーカーになりうる可能性が高いことが示唆された。また、IGF2 遺伝子と TUSC3 遺伝子のメチル化程度は、年齢や喫煙などで変化することがわかった。

研究成果の概要（英文）：

To determine whether or not the methylation status of blood leukocyte DNA can be used as a surrogate marker of the liability for cancer, we quantitatively determined the methylation levels of *IGF-2* and *TUSC3* in 299 gastric cancer cases, and 299 age- and gender-matched controls. The *IGF2* methylation levels in blood leukocyte DNA of the cases were significantly lower than those of the healthy controls and there was a significant trend of increasing gastric cancer risk with decreasing methylation level of *IGF2*. Patients with hypermethylated *IGF2* in blood leukocyte DNA showed a significantly better survival rate than those with hypomethylated *IGF2*, indicating that the *IGF2* methylation level in blood leukocyte DNA can be a predictive marker not only of the liability for but also of the prognosis of gastric cancer. In contrast, the *TUSC3* methylation level in blood leukocyte DNA was higher in the cases than in the healthy controls, but the difference was not significant. The past lifestyle and clinicopathological characteristics of the participants were analyzed as to any relationship with the methylation level. With aging and smoking, methylation of *IGF2* and *TUSC3* decreased and increased in blood leukocyte DNA, respectively. The presence of *H. pylori* antibodies was significantly associated with a higher methylation status of *TUSC3* in blood leukocyte DNA. These results indicate that the methylation levels of *IGF-2* and *TUSC3* in blood leukocyte DNA may be used as an important surrogate marker of the liability for gastric cancer.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	5,200,000	1,560,000	6,760,000
2009年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2010年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	13,900,000	4,170,000	18,070,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：社会医学・衛生学

キーワード：胃がん、メチル化、血球 DNA、エピジェネティクス

1. 研究開始当初の背景

DNA メチル化は、遺伝子のプロモーター領域のシトシン(C)にメチル基が付いて転写が抑制される現象で、がん化機構の一つとしても重要である。メチル化は細胞が増殖しても維持されていくので、一度メチル化がおこると突然変異などと同じように次世代の細胞に伝わっていく。このように DNA 塩基配列そのものには変化がないが、転写抑制などが次世代の細胞に伝わっていく変化をエピジェネティック(epigenetic)な変化という。DNA メチル化の他に、ヒストンのメチル化・アセチル化などもエピジェネティック変化である。変化の結果として、DNA 突然変異などの“Genetic change”ではできないタンパク質が質的に変化する。一方 “Epigenetic change”では、できるタンパク質は正常だが、量が減ることが特徴である。以上の変化が、がん遺伝子・がん抑制遺伝子などにおこるとがん化につながるの、できればもとにもどしたいわけだが、“Genetic change”は不可逆的である。しかし、メチル化は一度おこっても、5-アザシチジンなどの脱メチル化剤処理などにより、脱メチル化ひいては正常な転写にもどすことが可能である。

従来、DNA の変化と生活習慣などを疫学的に解析する学問を分子疫学(molecular epidemiology)と呼んでいるので、我々はメチル化と生活習慣などを疫学的に解析する学問をエピジェネティック疫学(epigenetic epidemiology)と呼ぶ。DNA メチル化は、炎症・老化・化学物質・生活習慣などにより進み、“Genetic change”と一緒に発がんへとつながる。しかし、脱メチル化剤処理やメチル化をおさえる生活習慣により脱メチル化をはかり、さらにはがんを治療したり、予防することも不可能ではない。

エピジェネティック疫学の対象はがんだけではなく。メチル化は高齢化に伴い異常が進行するので、年齢があがるとともに増え、かつ生活習慣と関連のある疾患(高血圧、心疾患、脳血管疾患、糖尿病など)も対象となりうる可能性があるの、発展性は非常に大きい。

2. 研究の目的

DNA メチル化などの“Epigenetic change”は、化学物質・生活習慣・老化・炎症などにより進み、DNA 突然変異などの“Genetic change”と一緒に発がんへとつなが

る。しかし、DNA メチル化の特徴として、脱メチル化剤処理やメチル化を変える生活習慣により脱メチル化をはかり、さらにはがんを治療したり、予防することも不可能ではない。我々は胃がんと DNA メチル化の関連について研究してきた。胃がんの DNA メチル化と生活習慣についても解析し、緑茶を多く摂取している患者では DNA メチル化程度が低いことなどを報告した。この成果を発展させて、血液白血球 DNA のメチル化の程度を定量的に測定し、がんのバイオマーカーになりうるか、さらに生活習慣がメチル化にどう影響するかを明らかにする。

インスリン様増殖因子 2 (IGF2) はがん促進的であり、メチル化が低いと発現が上がり、がん化にプラスに働くと考えられる。また、IGF2 は発現がインプリンティングによって制御されており、loss of imprinting (LOI) ががんでは高頻度に検出されている。さらに先天的に IGF2 の LOI を持つ人が 10%程度いて、大腸がん発症のリスクが高いという報告もあり、IGF2 メチル化の程度が注目されている。以上から IGF2 のメチル化の程度はがん化のリスクになりうる可能性が高い。一方、TUSC3 はがん抑制遺伝子と考えられており、正常大腸粘膜を用いた老化と DNA メチル化との関連の研究に用いられた。本研究では以上 2 遺伝子を解析した。

3. 研究の方法

胃がん患者 (Case) 299 名と、性・年齢をマッチさせた非がん症例 (Control) 299 名の血液白血球 DNA を抽出して研究に用いた。既往歴、生活習慣などはアンケート方式で情報を得た。血清中ピロリ菌抗体とペプシノーゲン I と II の値を測定した。IGF2 遺伝子のインプリンティングに関連した領域と TUSC3 遺伝子のプロモーター領域について、定量的メチル化解析を行った。年齢、性、既往歴、食習慣、血清中のピロリ菌抗体、予後などとメチル化の関連を統計的に解析した。

4. 研究成果

(1) 症例の特徴

胃がん患者 (Case) と非がん症例 (Control) の既往歴を比較した結果、胃・十二指腸潰瘍と糖尿病が Case に多かった。血清中のピロリ菌抗体陽性者と胃の委縮 (ペプシノーゲン I と II の値から判定) も Case に多かった。

(2) 血液白血球 DNA の IGF2 と TUSC3 のメチル化レベルについて

IGF2 のメチル化は、Case の方が Control より低かった。IGF2 のメチル化レベルを 4 分

割した時に、メチル化が1番低い値の群では、他の群より Case の割合が多かった。一方、TUSC3 のメチル化は Case の方が Control より高かったが、有意差はなかった。また、メチル化の程度を4分割した時にも Case と Control の割合の差は無かった。

(3) メチル化の程度と疫学的因子との関連

IGF2 のメチル化は、高齢者と喫煙者ではメチル化が低かった。一方、TUSC3 のメチル化は、高齢者と喫煙者ではメチル化が高かった。興味深いことに、ピロリ菌抗体陽性者は陰性者より TUSC3 のメチル化の程度が高かった。

(4) Case におけるメチル化の程度と臨床・病理学的因子との関連

IGF2 のメチル化についてステージ I とステージ II-IV に分けて解析したところ、メチル化が高い群の方が、低い群より有意に予後がよかった。TUSC3 のメチル化と臨床・病理学的因子との有意な関連は無かった。

以上から血液白血球 DNA の IGF2 のメチル化程度は、がんのリスクと予後のバイオマーカーになりうる可能性が高いことが示唆された。また、IGF2 と TUSC3 のメチル化程度は、年齢や喫煙などで変化することがわかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

- ① Fukamachi H, Shimada S, Ito K, Ito Y, Yuasa Y. CD133 is a marker of gland-forming cells in gastric tumors and Sox17 is involved in its regulation. *Cancer Sci*. 2011, in press, 査読有.
- ② Osawa T, Yuasa Y, Shibuya M, et al. Human glioblastoma cells exposed to long-term hypoxia and nutrient starvation stimulated induction of secondary T cell leukemia in mice. *Blood Cancer Journal* 2011, in press, 査読有.
- ③ Mimata A, Fukamachi H, Eishi Y, Yuasa Y: Loss of E-cadherin in mouse gastric epithelial cells induces signet ring-like cells, possible precursor lesion of diffuse gastric cancer. *Cancer Sci*. 2011;102:942-950, 査読有.
- ④ Rotkrua P, Akiyama Y, Hashimoto Y, Otsubo T, Yuasa Y: MiR-9 down-regulates CDX2 expression in gastric cancer cells. *Int. J. Cancer* 2011, in press, 査読有.
- ⑤ Otsubo T, Akiyama Y, Hashimoto Y, Shimada S, Goto K, Yuasa Y: MicroRNA-126 Inhibits SOX2 Expression and Contributes to Gastric Carcinogenesis. *PLoS One* 2011; 6: e16617. 査読有.
- ⑥ Yuasa Y: Epigenetics in molecular epidemiology of cancer: a new scope. *Adv Genet*. 2010;71:211-235, 査読有.
- ⑦ Wada R, Akiyama Y, Hashimoto Y, Fukamachi H, Yuasa Y: miR-212 is downregulated and suppresses methyl-CpG-binding protein MeCP2 in human gastric cancer. *Int. J. Cancer* 2010;127:1106-1114, 査読有.
- ⑧ Hashimoto Y, Akiyama Y, Otsubo T, Shimada S, Yuasa Y: Involvement of epigenetically silenced microRNA-181c in gastric carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2010;31:777-784, 査読有.
- ⑨ Yuasa Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Hashimoto Y, Takizawa T, Kojima K, Kawano T, Sugihara K, Imai K, and Nakachi K: DNA methylation status is inversely correlated with green tea intake and physical activity in gastric cancer patients. *Int. J. Cancer* 2009;124:2677-2682, 査読有.
- ⑩ Hellebrekers DMEI, Lentjes, MHFM, van den Bosch SM, Wouters AD, Daenen K, Melotte V, Smits KM, Partouns-Hendriks IEJM, Akiyama Y, Yuasa Y, Sanduleanu S, Khalid-de Bakker C, Jonkers D, Weijnenberg MP, Louwagie J, van Criekinge W, Carvalho B, Meijer GA, Baylin SB, Herman JG, de Bruïne AP & van Engeland M: GATA4 and GATA5 are potential tumor suppressors and biomarkers in colorectal cancer. *Clinical Cancer Res*. 2009;15:3990-3997, 査読有.
- ⑪ Jin S-H, Akiyama Y, Fukamachi H, Yanagihara K, Akashi T, Yuasa Y: *IQGAP2* inactivation through aberrant promoter methylation and promotion of invasion in gastric cancer cells. *Int. J. Cancer* 2008;122:1040-1046, 査読有.
- ⑫ Otsubo T, Akiyama Y, Yanagihara K, Yuasa Y: SOX2 is frequently down-regulated in gastric cancers and inhibits cell growth through cell cycle arrest and apoptosis. *Brit. J.*

Cancer 2008:98:824-831, 査読有.

- ⑬ Wanajo A, Sasaki A, Nagasaki H, Shimada S, Otsubo T, Owaki S, Shimizu Y, Eishi Y, Kojima K, Nakajima Y, Kawano T, Yuasa Y, Akiyama Y: Methylation of the calcium channel-related gene, *CACNA2D3*, is frequent and a poor prognostic factor in gastric cancer. *Gastroenterology* 2008:135:80-590, 査読有.
- ⑭ Fukamachi H, Mimata A, Tanaka I, Ito K, Ito Y, Yuasa Y: Differentiation in vitro of *Runx3*^{-/-}*p53*^{-/-} gastric epithelial cells into intestinal type cells. *Cancer Sci.* 2008:99:671-676, 査読有.

[学会発表] (計 12 件)

- ① Yuasa Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Kojima K, Oze I, Matsuo K, Imai K, Nakachi K. Epigenetic epidemiology of gastric cancer. JSPS A3 Foresight Program 2010 Seminar - Epigenetic Signatures in Gastric Carcinogenesis, 2010 年 2 月 21-24 日, 葉山.
- ② Yuasa Y, Hashimoto Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Kojima K, Oze I, Matsuo K, Imai K, Nakachi K. Epigenetic epidemiology of gastric cancer. International Workshop, at Radiation Effect Research Foundation. 2010 年 3 月 17-18 日, 広島.
- ③ 湯浅保仁、長崎弘美、秋山好光、尾瀬功、松尾恵太郎. Relationship between the methylation state of blood leukocyte DNA and carcinogenesis. 第 4 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2010 年 5 月 28-29 日, 鳥取.
- ④ Yuasa Y, Hashimoto Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Kojima K, Oze I, Matsuo K, Imai K, Nakachi K. Epigenetic epidemiology of gastric cancer. The 5th Asian Epigenomics Meeting & A3 Symposium 2010, June 20-22, 2010, Jeju, Korea.
- ⑤ 湯浅保仁、島田周、長崎弘美、三又絢子. 胃がんとエピジェネティクス. 第 69 回日本癌学会総会, 2010 年 9 月 22-24 日, 大阪.
- ⑥ 湯浅保仁. 衛生学におけるエピジェネティクス研究. 第 79 回日本衛生学会総会, 東京, 2009 年 3 月 29-4 月 1 日.
- ⑦ 湯浅保仁、長崎弘美、秋山好光、小嶋一

幸、松尾恵太郎、今井一枝、中地敬. 胃がんのエピジェネティック疫学. 第 68 回日本癌学会総会, 2009 年 10 月 1-3 日, 横浜.

- ⑧ 湯浅保仁. 胃がんのエピジェネティック疫学. 第 78 回日本衛生学会総会, 熊本, 2008 年 3 月 28-31 日.
- ⑨ 湯浅保仁、長崎弘美、橋本裕、秋山好光、今井一枝、中地敬. 胃のがん化における DNA メチル化とマイクロ RNA の関与. 第 2 回日本エピジェネティクス研究会年会, 2008 年 5 月 9-10 日, 三島.
- ⑩ 湯浅保仁、金 順花、深町博史、秋山好光. 胃がん細胞における *IQGAP2* 遺伝子のメチル化によるサイレンシングと浸潤能の亢進. 第 9 回日本がん分子疫学研究会, 2008 年 5 月 22-23 日, 福岡.
- ⑪ 湯浅保仁. エピジェネティクスと発がん. 環境ホルモン学会, 2008 年 6 月 10 日, 東京.
- ⑫ Yuasa Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Imai K, Nakachi K. DNA methylation status is inversely correlated with green tea intake and physical activity in gastric cancer patients. Northeastern Asian Symposium on "Cancer Epigenetics", Jeju Island, Korea, November, 5-7, 2008.

[図書] (計 2 件)

- ① 湯浅保仁: がん診療 update 「がん罹患性因子と前がん病変」. 日本医師会雑誌, 2009:138:S32-S33.
- ② 湯浅保仁: 大腸癌 「分子予防環境医学」. 本の泉社, p436-443, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯浅 保仁 (YUASA YASUHIITO)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・教授
研究者番号: 80111558

(2) 連携研究者

秋山 好光 (AKIYAMA YOSHIMI S TU)
東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師
研究者番号: 80262187