

氏名	坪井良樹
学位の種類	博士(医療科学)
学位記番号	甲第33号
学位授与の日付	2023年3月12日
学位論文題名	Increased risk of cancer mortality by smoking-induced aryl hydrocarbon receptor repressor DNA hypomethylation in Japanese population: A long-term cohort study 「日本人集団におけるaryl hydrocarbon receptor repressor遺伝子のDNA低メチル化によるがん死亡リスクの上昇：長期追跡コホート研究」
指導教員	教授 鈴木康司
論文審査委員	主査 教授 竹松弘 副査 教授 成瀬寛之 教授 市野直浩

## 論文内容の要旨

【背景】DNAメチル化は、遺伝子発現制御に関わる分子メカニズムの一つであり、生活習慣により後天的に変化し疾患発症に関与している。近年、喫煙によるがん発症・進展のメカニズムにDNAメチル化が関与していると着目されている。たばこの煙に含まれる多環芳香族炭化水素は、aryl hydrocarbon receptor(AHR)のリガンドに作用し発がんに寄与する。Aryl hydrocarbon receptor repressor(AHRR)は、AHRシグナルを抑制する作用を有し、AHRRの発現低下はがん化を誘導する。AHRR遺伝子のDNAメチル化は、喫煙によって低メチル化することが報告されており、喫煙によるAHRR遺伝子のDNA低メチル化は、がん進行に関与する分子メカニズムであると考えられる。ヨーロッパ人を対象とした疫学研究では、白血球AHRR遺伝子のDNA低メチル化が肺がんリスクを上昇させることが示された。しかし、DNAメチル化は人種間で異なることが示唆されているため他人種による検証が必要である。これまでに、アジア人集団におけるAHRR遺伝子のDNAメチル化率とがん死亡との関連は明らかではない。本研究では、日本人集団を対象に白血球AHRR遺伝子のDNAメチル化率とがん死亡リスクとの関連を長期追跡コホート研究により調査した。さらに、AHRR遺伝子のDNAメチル化率が喫煙によるがん死亡リスクへの影響を媒介するのか検討した。

【方法】1990年の北海道二世郡八雲町の町民ドック受診者のうち、研究不同意者、既往歴者(がん、脳卒中、虚血性心疾患)、DNAメチル化率未測定者、喫煙習慣情報の未回答者、死亡日の不明者を除く812名(男性303名、女性509名)を解析対象とした。2019年まで死亡追跡調査を実施しICD10コードに基づき死因分類(全がん死亡：C00-C97、肺がん死亡：C34)した。また、国際がん研究機関が喫煙との因果関係を報告しているがんを喫煙関連がんとして定義した。AHRR遺伝子のDNAメチル化率は、末梢血単核細胞から抽出したDNA

を用いてパイロシーケンス法にて測定した。がん死亡とDNAメチル化率との関連は、Cox比例ハザードモデルを使用し、ハザード比(HR)および95%信頼区間(95% CI)を算出した。調整項目には、性別、年齢、飲酒習慣、BMI、プリンクマン指数を加えた。さらに、媒介分析を使用してAHRR遺伝子のDNAメチル化率による喫煙とがん死亡の媒介効果を求めた。

【結果】追跡期間中央値は、27.8年であり、全がん死亡者数100名、喫煙関連がん死亡者数66名、肺がん死亡者数27名であった。ベースライン時のAHRR遺伝子のDNAメチル化率が10%低い場合の全がん死亡HRおよび95% CIは、1.28 [1.09-1.51]と有意に高い値を示した。また、喫煙関連がんおよび肺がんの死亡HRおよび95% CIにおいても同様の有意な関連を示した(喫煙関連がん:1.35 [1.12-1.62]、肺がん:1.68 [1.24-2.26])。さらに、媒介分析の結果、喫煙によるがん死亡リスクへのAHRR遺伝子のDNAメチル化率の有意な媒介効果が示された。

【考察】日本人集団を対象に白血球AHRR遺伝子のDNAメチル化率とがん死亡との関連を調査した結果、白血球AHRR遺伝子のDNAメチル化の低下ががん死亡リスク上昇に関与することが明らかとなった。さらに、AHRR遺伝子のDNA低メチル化が喫煙とがん死亡リスクの関連を媒介する一つの因子である可能性を示唆した。

AHRRは、喫煙によるAHRシグナル活性を負にフィードバックする作用を有している。AHRR発現はDNAメチル化により抑制されていることから、白血球AHRR遺伝子のDNA低メチル化は、喫煙によるAHRシグナル活性を抑制する可能性が考えられる。喫煙者の肺組織では、AHRR遺伝子のDNAメチル化率の低値が認められている一方、がん組織では高値が確認されている。この不一致性から、AHRR遺伝子のDNA低メチル化はがん発症前段階であり、保護的な役割を担っていると考えられ、AHRR遺伝子のDNA低メチル化はがん進行を早期に予測するためのバイオマーカーとして期待できる。

【結論】日本人集団を対象とした長期追跡コホート研究により、喫煙によるAHRR遺伝子のDNA低メチル化が、がん死亡リスク上昇に寄与することを明らかとした。本研究結果は、AHRR遺伝子のDNA低メチル化ががん死亡リスクの有用なバイオマーカーとしての可能性を示唆した。

## 論文審査結果の要旨

本研究では、日本人集団でのaryl hydrocarbon receptor repressor 遺伝子のメチル化低下ががん死亡リスクを上昇させるという結果がえられ、最終試験で発表された。そこで、主査及び副査から、がん発症原因としてとらえられるのか、長年の生活習慣による変動の影響がどうか、人種間ではどうか。また、メチル化と遺伝子発現は本当に相関するのか。末梢血単核細胞と肺組織細胞でのメチル化の異同など、多岐に亘る質問があり、申請者は各質問に対して的確に説明することができた。また、長年にわたって追跡できるコホート研究としての本研究の強みも確認された。故に申請者は本研究を主体的に実施したこと及び専門領域の知識を十分有していたことを確認できた。本論文は、査読付き英文雑誌「Cancer Epidemiology」に掲載されており、英語による論文作成能力も有していると判断した。博士(医療科学)の学位を与えるに十分な能力を有すると判定した。