

論 文 内 容 要 旨

題目 Hypomethylation of Long Interspersed Nuclear Element-1 (LINE-1) is Associated with Poor prognosis via Activation of c-MET in Hepatocellular Carcinoma

(LINE-1 の低メチル化は c-Met の活性化を介して肝細胞癌の予後不良と関連している)

著者 Chengzhan Zhu, Tohru Utsunomiya, Tetsuya Ikemoto, Shinichiro Yamada, Yuji Morine, Satoru Imura, Yusuke Arakawa, Chie Takasu, Daichi Ishikawa, Issei Imoto and Mitsuo Shimada

平成 26 年 7 月 4 日発行 Annals of Surgical Oncology 第 21 巻第 Suppl 4 号

729 ページから 735 ページに発表済

内容要旨

肝細胞癌は癌罹患率 5 位、癌死亡率 2 位の予後不良な癌腫で、その罹患率も上昇している。これまで HCC 予後予測に関する分子生物学的バイオマーカーが探索されているが、治療効果及び再発予測する有用なバイオマーカーは確立されていない。

遺伝子発現には DNA 塩基配列の変化によるもの (ジェネティクス) と変化を伴わない遺伝子発現制御 (エピジェネティクス) があり、エピジェネティック遺伝子発現は主に DNA メチレーションやヒストンの化学的修飾により制御されている。これまでに各癌腫におけるエピジェネティック変化と発癌・癌進展の関連が報告されているが、特に DNA メチル化異常の中でも long interspersed element 1 (LINE-1) はヒトゲノムに最も豊富にあるレトロトランスポゾンで、ヒトゲノムの約 17% を占めており、グローバル DNA メチル化の代用マーカーとして注目され、また低メチル化に伴う LINE-1 活性化が発癌や癌進展に関与することも報告されている。しかし、肝細胞癌における LINE-1 メチル化状態の生物学的意義は解明されていない。

本研究では、肝切除術を施行した肝細胞癌 75 例を対象として、切除標本を用い、LINE-1 プロモーター領域における CpG 部位のメチル化レベルは定量的パイロシーケンスにより測定し、臨床病理学的因子について LINE-1 低メチル化・高メチル化グループ 2 群間で比較した。さらに、LINE-1 低メチル化の癌進展へ

## 様式(8)

の関与について、肝細胞増殖因子（HGF）受容体で癌細胞の増殖・遊走などに関与する c-MET に着目し、LINE-1 inserted c-Met (L1-MET) 遺伝子発現を RT-PCR により測定し、LINE-1 メチル化との関連を解析した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) 癌部 LINE-1 メチル化は非癌部組織と比較して有意に低メチル化状態であった ( $48.3 \pm 12.2\%$  vs.  $68.2 \pm 2.0\%$ 、 $p < 0.0001$ )。癌部 LINE-1 低メチル化群は、性別以外の臨床病理学的因子とは相関を認めなかった。
- 2) 癌部 LINE-1 低メチル化群は予後不良で、多変量解析で LINE-1 低メチル化は腫瘍径 ( $>3.5\text{cm}$ )、stage (III/IV)、肝内転移、血清 AFP 値 ( $\geq 20\text{ng/ml}$ ) とともに全生存率における独立予後不良因子として同定された。また癌部 LINE-1 低メチル化群は無再発生存率も有意に不良で、多変量解析で肝静脈浸潤、肝予備能 ( $\text{ICG} \geq 15\%$ ) とともに独立無再発予後不良因子であった。
- 3) RT-PCR による L1-MET 遺伝子発現は非癌部と比較して癌部で有意に高く、LINE-1 メチル化レベルは L1-MET 遺伝子発現と逆相関していた。さらに、癌部 LINE-1 低メチル化群の c-MET タンパク発現（免疫染色）は癌部高メチル化群と比較して高発現であった。

これらの結果から LINE-1 低メチル化状態は肝細胞癌の癌部で非癌部より高頻度に確認されるとともに、癌部 LINE-1 の低メチル化が肝細胞癌切除後の独立予後不良因子であることが明らかとなった。さらにその機序として c-Met 発現を制御している関与が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第1258号	氏名	朱 呈瞻
審査委員	主査 丹黒 章 副査 高山 哲治 副査 常山 幸一		

題目 Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) is associated with poor prognosis via activation of c-MET in hepatocellular carcinoma.  
 (LINE-1の低メチル化はc-METの活性化を介して肝細胞癌の予後不良と関連している)

著者 Chengzhan Zhu, Tohru Utsunomiya, Tetsuya Ikemoto, Shinichiro Yamada, Yuji Morine, Satoru Imura, Yusuke Arakawa, Chie Takasu, Daichi Ishikawa, Issei Imoto and Mitsuo Shimada  
 平成26年7月4日発行 Annals of Surgical Oncology 第21巻第Suppl 4号729ページから735ページに発表済  
 (主任教授 島田 光生)

要旨 肝細胞癌は罹患率5位、死亡率2位の予後不良な癌腫で、その罹患率も増加している。エピジェネティック遺伝子発現はDNAメチル化やヒストンの化学的修飾により制御されており、各癌腫における発癌や癌進展との関連が報告されている。特にDNAメチル化異常の中でも long interspersed element 1 (LINE-1) はヒトゲノムに最も豊富にあるレトロトランスポゾンで、グローバルDNAメチル化のサロゲートマーカーとして注目され、また低メチル化に伴うLINE-1活性化が発癌や癌進展に関与することも報告されている。しかし、肝細胞癌におけるLINE-1メチル化状態の生物学的意義は解明されていない。

申請者らは、肝細胞癌75例の切除標本を用い、LINE-1プロモ

ーター領域における CpG 部位のメチル化レベルを定量的パイロシーケンスにより測定し、低メチル化と高メチル化 2 群間で臨床病理学的因子と比較した。また LINE-1 低メチル化の癌進展への関与について肝細胞増殖因子受容体 c-MET に着目し、LINE-1 inserted c-Met (L1-MET) 遺伝子発現を RT-PCR により測定し LINE-1 メチル化との関連を解析した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) 癌部 LINE-1 メチル化は、非癌部組織と比較して有意に低メチル化状態であった (48.3% vs. 68.2%)。
- 2) 低メチル化群は、性別以外の臨床病理学的因子とは相関せず予後不良であった。多変量解析でも低メチル化は、腫瘍径、stage (III/IV)、肝内転移あり、血清 AFP 値とともに独立予後不良因子であった。また低メチル化群は、無再発生存率も不良で、多変量解析で肝静脈浸潤、肝予備能とともに独立再発因子であった。
- 3) 癌部 L1-MET 遺伝子発現は、非癌部と比較して有意に高く、LINE-1 メチル化レベルと逆相関しており、低メチル化群の c-MET タンパク発現は高メチル化群と比較して高値であった。

以上の結果から、肝細胞癌の LINE-1 の低メチル化が切除後の独立予後不良・再発因子であり、さらにその機序として c-Met 発現を制御していることが示唆された。

本研究は、肝細胞癌の悪性度解明やテーラーメイド治療法開発に寄与するものと考えられ、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。