

## ヒト肝細胞キメラマウスを用いた肝細胞癌における DNA メチル化異常の解析

岡本泰幸<sup>1,3</sup>、新城恵子<sup>1</sup>、田中靖人<sup>2</sup>、関戸好孝<sup>1</sup>、片岡洋望<sup>3</sup>、中沢貴宏<sup>3</sup>、城卓史<sup>3</sup>、近藤豊<sup>1</sup>、

<sup>1</sup>愛知県がんセンター研究所 分子腫瘍学部

<sup>2</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 ウイルス学

<sup>3</sup>名古屋市立大学大学院医学研究科 消化器・代謝内科学

近年エピジェネティクスの研究が急速にすすみ、DNA の異常メチル化が、がんの発生や進展に関わることが明らかとなった。肝細胞がんにおいても肝炎ウイルスの感染に伴い、慢性肝炎、肝硬変という経過を経て DNA のメチル化の蓄積を認めるといった報告がある。しかし、ウイルス感染どのような機序を介して DNA のメチル化を誘導するのかは明らかではない。【目的・方法】我々は、肝炎ウイルス感染後の免疫不全ヒト肝細胞キメラマウス (HBV 9 匹, HCV 9 匹) に対して、Methylated CpG Island amplification-microarray (MCAM) 法を用いて 6157 遺伝子のプロモーター領域の DNA メチル化異常を網羅的解析し、肝炎ウイルスの感染に伴う DNA の異常メチル化を明らかにする。また、これらの DNA メチル化と肝細胞がんでの DNA メチル化の関連を明らかにするため、肝細胞がんの臨床検体 (HBV17 例, HCV19 例) を網羅的に解析し比較検討した。

【結果】ヒト肝細胞キメラマウスを網羅的解析した結果、HCV 感染マウスでは、HBV 感染マウスに比較し多くの遺伝子でプロモーター領域の異常メチル化を認めた (337 遺伝子 vs 157 遺伝子,  $P=0.024$ )。また、HBV におけるメチル化標的遺伝子の多くは、HCV でも同様にメチル化の標的であった。これらヒト肝細胞キメラマウスでの DNA メチル化標的遺伝子の多くは、肝細胞がんにおいても同様に DNA メチル化の標的遺伝子であることが確認された。また、ヒト肝細胞キメラマウスでは、DNA メチル化の標的遺伝子のメチル化レベルは時間依存性に上昇し、総ゲノムの DNA メチル化を反映する LINE 1 のメチル化レベルは時間依存性に減少していることがパイロシーケンス法にて確認された。さらに肝炎ウイルスが感染していないマウス由来の DNA にお

いてもメチル化の蓄積が確認された。ウイルス感染後には、マウス由来のマクロファージや NK 細胞から産生されるサイトカインが上昇しており、また感染肝組織内で活性酸素の産生亢進が観察された。本解析から、肝炎ウイルス感染に伴う DNA メチル化には、周囲の環境因子が密接に関わっており、なかでもウイルス感染後の感染細胞・非感染細胞の両者での炎症を介した DNA メチル化の誘導が重要であると考えられた。