

氏名（本籍）	大村 功		
学位の種類	博 士（ 学 術 ）		
学位記番号	博 甲 第	7350	号
学位授与年月日	平成 27 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生命環境科学研究科		
学位論文題目	ラット肝発がんにおける遺伝子発現及びDNAメチレーションの網羅的解析		
主査	筑波大学教授	農学博士	馬場 忠
副査	筑波大学教授	農学博士	深水 昭吉
副査	筑波大学准教授	博士（農学）	柏原 真一
副査	筑波大学准教授	博士（薬学）	木村 圭志

## 論 文 の 要 旨

本研究は、ラット二段階発がん試験を実施し、肝臓の網羅的遺伝子発現解析およびDNAメチレーション解析によって非遺伝毒性発がんにおけるイニシエーションポテンシャルの検出とそのメカニズムの考察、さらに遺伝子発現データと遺伝子プロモーター領域のDNAメチレーション状態を総合的に解析することによって肝発がんの初期反応を捉えたものである。

非遺伝毒性発がん物質のthioacetamideとmethapyrilene、遺伝毒性発がん物質のdiethylnitrosamine、および非発がん物質であるacetaminophenをそれぞれイニシエーション処置に用いた二段階発がん試験の結果から、非遺伝毒性発がん物質においても反復投与による継続的な暴露が肝細胞のイニシエーションを惹起する可能性を見いだした。イニシエーション処置に用いたそれぞれの物質が酸化ストレスに関連する遺伝子の発現変動を惹起したのに対し、acetaminophen以外の物質はDNAダメージに関連する遺伝子の発現変動を惹起した。すなわち、thioacetamideやmethapyrileneといった非遺伝毒性発がん物質は、その暴露によって生じる酸化ストレスがDNAダメージをも惹起する可能性が考えられた。本研究で取り入れた反復投与によるイニシエーション処置は、従来の二段階発がんモデルとは異なる方法であったが、弱いDNAダメージ作用を持つ物質のイニシエーションポテンシャルを検出するために有用な方法であると考えられた。

一方、diethylnitrosamineイニシエーション処置によって前がん病変を誘発した肝臓を用いて、網羅的遺伝子発現解析およびDNAメチレーション解析を行った。Diethylnitrosamine処置群では、遺伝子発現およびDNAメチレーションに共通して変動が見られる遺伝子が、PTENシグナルや免疫反応、特に抗原提示に関わるものであることがパスウェイ解析によって明らかとなった。さらに、この共通遺伝子群についてさまざまな肝毒性物質投与ラット肝臓での遺伝子発現変動プロファイルを調べたところ、遺伝毒性、非遺伝毒性それぞれの発がんポテンシャルを有する化合物においても類似した変動が認められた。以上の結果から、これらの遺伝子が発がんポテンシャルに関連する可能性が考えられた。また、変動遺伝子のうち、有意なDNAメチレーションの低下および発現上昇が認められたRT1-CE5は抗原提示反応に関与する遺伝子であるが、この遺伝子産物が前がん病変と同じ領域で発現している部位が存在したため、そのことが発がん初期での反応の可能性が示唆された。

本研究で行ったアプローチは、顕著な遺伝子発現の変動にDNAメチレーションの情報を加えることで、従来のトキシコゲノミクスアプローチ単独では焦点を当てるのが難しかった反応も見いだすことができる点で斬新性がある。今後、多くの研究がなされてきたトキシコゲノミクスアプローチに加え、遺伝子発現の

制御に關与するエピジェネティックな情報を加味することで、発がんに限らずさまざまな毒性反応検出への応用が期待される。

## 審 査 の 要 旨

一般的に、医薬品はその開発過程においてさまざまなハードルを越えて患者のもとに届けられる。その中でも医薬品の安全性は最も重要な項目のひとつであるが、安全性評価には時間とコストがかかるために効率的な評価方法の開発が求められている。

本研究では、医薬品の発がん性という観点からその毒性に関する基礎的な検討がなされた。投与期間に工夫を加えた短期発がん試験を行うことによって、従来、非遺伝毒性発がん物質と考えられてきた化学物質のイニシエーション活性の検出とそれを裏付ける遺伝子発現変動の考察を行った。さらに、前がん病変のある肝臓の解析から、発がん初期の反応として特徴的な遺伝子発現とDNAメチレーションの変動があることを明らかにし、その反応が発がんポテンシャル検出へ応用できる可能性を見いだした。

従来まで毒性メカニズム解析のアプローチのひとつとしてトキシコゲノミクス手法が広く用いられてきたが、本研究はエピジェネティックな観点を組み合わせた新規毒性評価法を開発し、当該研究分野の発展および効率的な医薬品開発に貢献をしたと考えられる。

平成27年1月21日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査および最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（学術）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。