



Mass spectrometric profiling of DNA adducts in the human stomach associated with damage from environmental factors

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2021-08-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 大西, 一平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003892

博士（医学） 大西 一平

論文題目

Mass spectrometric profiling of DNA adducts in the human stomach associated with damage from environmental factors

(環境因子による損傷と関連する、ヒトの胃における DNA 付加体の質量分析プロファイリング)

[はじめに]

DNA 付加体は、がんを起こる遺伝子変異発生の起源の一つと考えられているが、臨床的背景との関係や、ヒト組織内での多彩な実態など、不明な部分が多い。液体クロマトグラフィータンデム型質量分析法により、複数の DNA 付加体を同時に分析することが可能になったが、ヒト組織に適用する試みは、あまり報告されておらず、ヒト臓器における DNA 付加体の空間的分布などの情報は、ほとんどない。今回、申請者はヒト胃粘膜の DNA に対して質量分析を行い、環境因子と関連する DNA 付加体を同定した。

[材料ならびに方法]

胃切除を受けた胃がん 59 症例の、非腫瘍部 306 検体と腫瘍部 15 検体(14 症例)を対象として、DNA アダクトーム法を行った。非胃がん 7 症例(ただし尿道がん、肝細胞がん、肺がんの患者が各 1 症例ずつ含まれ、その他の 4 症例は、がんを持たない)の剖検例の胃粘膜組織も分析した。各検体から、抗酸化剤の存在下で抽出した DNA をヌクレオシドに分解し、液体クロマトグラフィーにより分離し、エレクトロスプレーイオン化した。標準品と比較し、質量/電荷数とカラム保持時間を用いて、特定の DNA 付加体を同定した。喫煙歴、飲酒歴など生活歴の情報は臨床記録から得た。この研究は、浜松医科大学臨床研究倫理委員会(IRB 20-011)と磐田市立総合病院倫理委員会(申請者; 鈴木潮人、題目; 「ヒト腫瘍の分子病理学的解析」研究のための患者材料の提供の同意書について、承認日; 2013 年 12 月 12 日)で承認された。

[結果]

C5-メチル-2'-デオキシシチジン、2'-デオキシイノシン、C5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジン、N6-メチル-2'-デオキシアデノシン、1,N6-エテノ-2'-デオキシアデノシン、N6-ヒドロキシメチル-2'-デオキシアデノシン、C8-オキソ-2'-デオキシングアノシンの 7 個の DNA 付加体が正常の塩基に比して、 1×10^{-6} から 4×10^{-3} の割合でヒト胃粘膜において同定された。これらの DNA 付加体には、胃の中の複数の部位による個体内の差が存在したが、個体間の差の方が大きかった。ヒト胃粘膜で N6-ヒドロキシメチル-2'-デオキシアデノシンを初めて同定した。C5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジンは、胃がん症例の非腫瘍部や腫瘍部と比較して、非胃がん症例の胃粘膜で多かった。1,N6-エテノ-2'-デオキシアデノシン

は非喫煙・非飲酒者と比較して、喫煙・飲酒者において高値であった。これらの DNA 付加体量には、相互に大きな相関関係が見られた。

[考察]

ヒト臓器を対象に DNA 付加体解析をした報告は少ない。申請者は個々の症例の胃粘膜の複数個所において、DNA 付加体の質量分析を行い、7 個の DNA 付加体について、症例間格差や、生活習慣との関連性を示した。C5-メチル-2'-デオキシシチジンは、遺伝子発現の調節に働く DNA メチル化の分子の実体であり、C5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジンは、脱メチル化で生じるその酸化型である。C5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジンが非胃癌症例の胃粘膜より胃癌症例の非腫瘍部で低い結果は、腫瘍部に見られるゲノム全体の低メチル化と低ヒドロキシメチル化という現象が腫瘍と隣接した領域にも生じている可能性を示唆した。新たな DNA メチル化の指標とされる N6-メチル-2'-デオキシアデノシンは、胃癌症例の腫瘍部では非腫瘍部と比較して少ないとする過去の報告と異なり、今回のデータでは非腫瘍部と腫瘍部の間の有意な差異は認めなかった。またその酸化型である N6-ヒドロキシメチル-2'-デオキシアデノシンを胃粘膜で初めて検出した。2'-デオキシイノシンは外因性、内因性のストレスによる脱アミノ化によって生じ、変異原性があると考えられている。今回も検出された C8-オキソ-2'-デオキシグアノシンは、活性酸素種によって引き起こされ、突然変異に関連する DNA 損傷であり、胃炎などの炎症に伴う酸化ストレスのマーカーとして挙げられることが一般的であった。しかし過酸化脂質によって生じる 1,N6-エテノ-2'-デオキシアデノシンを胃粘膜における、喫煙や飲酒と関連する酸化ストレスの新たなマーカーとして初めて提示することができた。液体クロマトグラフィータンデム型質量分析法は、従来の方法に比べ、複数の DNA 付加体を俯瞰的に捉える優位性を示したが、現在の申請者の方法では高分子あるいは疎水性の高い DNA 付加体の検出に限界があり、実験方法の改良、定量性の向上などが求められる。

[結論]

胃癌症例と非胃癌症例の、非腫瘍部の胃粘膜を用い、7 個の DNA 付加体の特徴を解明した。胃癌症例の非腫瘍部であっても、非胃癌症例の胃粘膜より C5-ヒドロキシメチル-2'-デオキシシチジンが減少していることを観察した。喫煙や飲酒の習慣が、脂質過酸化に由来する付加体の一つである 1,N6-エテノ-2'-デオキシアデノシンの量に影響を与えていた。今後は臨床や病理の詳細な情報と、より広範な DNA 付加体の全貌、さらにそこに生じたヒト腫瘍の変異シグネチャーとの関連解明につながれば、遺伝と環境が相互作用してできあがっていくヒト発がんの本態の理解につながると考えられる。