

氏 名	安 炳 九
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 6 2 4 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 2 年 9 月 8 日
学 位 論 文 題 目	Characteristic methylation profile in CpG island methylator phenotype-negative distal colorectal cancers (CpG island methylator phenotype 陰性遠位部大腸癌の特徴的なメチル化プロファイル)
審 査 委 員	主 査 教 授 岡 部 英 俊 副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐 副 査 教 授 小 笠 原 一 誠

論文内容要旨

※整理番号	629	(ふりがな) 氏 名	あん 安	びん 炳	ぐ 九
学位論文題目	Characteristic methylation profile in CpG island methylator phenotype-negative distal colorectal cancers (CpG island methylator phenotype 陰性遠位部大腸癌の特徴的なメチル化プロファイル)				
<p>【目的】</p> <p>DNA メチル化異常は、大腸の発癌過程の早期から認められ、癌関連遺伝子の発現抑制を介して癌の発生・進展に関与している。一部の大腸癌では、複数の遺伝子が高頻度にメチル化しており CIMP (CpG Island methylator phenotype) と呼ばれる。これらの大腸癌は、近位部大腸（上行結腸～横行結腸）に好発し、KRAS、BRAF 遺伝子の変異を伴いやすい等の特徴的な臨床像を呈することがわかっている。一方で、大腸癌は遠位部大腸（下行結腸～直腸）にも高頻度に認められ、そのほとんどは CIMP 陰性大腸癌である。これまで大腸癌は近位部と遠位部とでは、発生頻度や病理組織像、分子生物学的特徴など様々な点で異なると報告されてきた。本研究では、大腸癌症例における DNA メチル化異常を定量的、網羅的に詳細に解析し、大腸の部位による DNA メチル化の蓄積様式の違い、および臨床病理学的背景因子との関連を明らかにすることを試みた。</p> <p>【方法】</p> <p>大腸癌症例（CRCs：94 症例）の癌部および背景粘膜部、さらに対照として大腸ポリープ症例（CPs）のポリープ部（22 症例）、背景粘膜部（38 症例）より DNA を抽出し、パイロシークエンス法を用いて定量的にメチル化の解析を行った。①CIMP マーカーとして報告されている 5 遺伝子（hMLH1, MINT1, MINT2, MINT31, p16）、②5 つの癌関連遺伝子（RASSF1A, SFRP1, SFRP5, MGMT, RUNX3）、③ゲノム全体のメチル化レベルを反映する LINE1、の各々のメチル化レベルを解析した。さらに遠位部大腸癌で高頻度にメチル化する遺伝子を検索するため、CIMP 陽性近位部大腸癌 7 症例と、CIMP 陰性遠位部大腸癌 11 症例から抽出した DNA を用いて、MCA (Methylated CpG island Amplification) マイクロアレイ法による DNA メチル化標的遺伝子の網羅的な解析を行った。</p> <p>【結果】</p> <p>CRCs 94 症例のうち、CIMP 陽性症例（24 症例、25.5%）は従来の報告と同様に、近位部</p>					

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

大腸で多く観察された ($P<0.01$)。癌部の部位別検討では、CIMP マーカーの 5 遺伝子はいずれも近位部大腸癌でメチル化レベルが高い傾向を認めた。一方、RASSF1A のメチル化レベルは遠位部大腸癌で高値を認めた。背景粘膜部の部位別検討では、RASSF1A、SFRP1 のメチル化レベルが遠位部大腸で高値を示し、さらに遠位部大腸では両遺伝子のメチル化レベルはともに年齢と正の相関を認めた。同様の傾向は CPs 症例の背景粘膜においても認められたが、RASSF1A、SFRP1、MGMT のメチル化レベルが CRCs 症例の遠位部大腸では、互いに相関しているのに対し、CPs 症例の背景粘膜では、そのような相関は認めなかった。また、ゲノム全体のメチル化レベルを反映する LINE1 の部位別検討では、CRCs 症例の遠位部背景粘膜において、年齢と負の相関を認めたが、CPs 症例の背景粘膜ではそのよう傾向は認めなかった。CRCs 症例における DNA メチル化標的遺伝子について部位別に検討するため、CIMP 陰性遠位部大腸癌 11 症例、CIMP 陽性近位部大腸癌 7 症例に対し、MCA マイクロアレイ法を用いた網羅的解析を行った。結果、CIMP 陰性遠位部大腸癌症例で特異的にメチル化を認めたのは、168 遺伝子で、その半数以上が、加齢によるメチル化異常をきたす遺伝子であった。一方 CIMP 陽性近位部大腸癌症例で特異的にメチル化を認めたのは、720 遺伝子で、その半数以上が、癌部特異的にメチル化異常をきたす遺伝子であった。

【考察】

一般に癌組織における DNA メチル化異常は、正常部と比較してゲノム全体のメチル化レベルの低下と、プロモーター領域や 3'-非翻訳領域などの高メチル化状態であることが知られている。今回、大腸癌部および背景周囲粘膜部のメチル化蓄積様相を部位別に検討し、遠位部大腸癌症例では、加齢に伴う遺伝子プロモーター上のメチル化蓄積と、ゲノム全体メチル化レベルの低下が組織学的正常粘膜より起こることを見出した。さらに、MCA マイクロアレイ法を用いたゲノムワイドな DNA メチル化異常の検討により、遠位部大腸では、CIMP 陽性近位部大腸癌とは異なったメチル化の標的遺伝子が存在することを明らかにした。近位部大腸では CIMP を代表とする、癌部特異的な DNA メチル化の蓄積が発癌過程に関与していることが報告されている。本研究の結果から、遠位部大腸癌では、加齢による DNA メチル化異常が Field cancerization の形成に寄与し発癌に関わっている可能性が強く示唆された。

【結論】

大腸癌の発癌過程において DNA メチル化の蓄積様式は単一ではなく、メチル化される遺伝子は大腸の部位により異なることが示唆された。近位部大腸に関与が深い CIMP 症例に対し、遠位部大腸では DNA メチル化蓄積は年齢と強い相関を認め、その蓄積が発癌に関与していると考えた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	629	氏名	安 炳九
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨)</p> <p>本研究では、近位部大腸癌で高頻度に認められる、CpG Island Methylator Phenotype (CIMP) とは別の、DNA メチル化を介した大腸発癌機構を明らかにするため、近位部大腸癌と遠位部大腸癌におけるメチル化異常を比較検討した。まず、背景粘膜における DNA メチル化異常を、メチル化蓄積パターン、さらにはゲノム全体のメチル化の変化から大腸の部位ごとに定量的に検討を行った。さらに CIMP 陰性遠位部大腸癌症例と CIMP 陽性近位部大腸癌症例とを網羅的に比較し、検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 大腸癌の発癌過程において DNA メチル化の蓄積様式は単一ではなく、メチル化される遺伝子は大腸の部位により異なる 2) 遠位部大腸では DNA メチル化蓄積は年齢と正の相関を認め、その蓄積が遠位部大腸癌の発癌に関与している 3) 遠位部大腸背景粘膜ではゲノム全体のメチル化レベルは負の相関を認める 4) CIMP 陽性近位部大腸癌では、癌部特異的メチル化を来たす遺伝子が、一方 CIMP 陰性遠位部大腸癌では、加齢に伴うメチル化を来たす遺伝子が各々の発癌に関与する <p>本論文は、大腸における CIMP 以外の DNA メチル化を介した発癌機構について新しい知見を与えたものであり、博士 (医学) の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数 548)</p> <p style="text-align: right;">(平成 22 年 8 月 30 日)</p>			