

論文内容要旨

論文題目

Hypermethylation of *Chfr* and *hMLH1* in gastric noninvasive and early invasive neoplasias

(胃腫瘍における *Chfr* および *hMLH1* プロモーター領域のメチル化について)

責任講座： 消化器病態制御内科学分野

氏 名： 本間直之

【内容要旨】

【背景と目的】遺伝子の不安定性 (genetic instability) はヌクレオチドレベルでの不安定性 (nucleotide level instability) と染色体レベルでの不安定性 (chromosomal instability) に大別される。ヌクレオチドレベルでの不安定性は *hMLH1* 等の DNA 修復系遺伝子の異常に起因し、マイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability; MSI) として広く知られた事象である。一方、染色体レベルでの不安定性については原因となる遺伝子異常は明らかにはなっていないが、分裂期チェックポイント遺伝子の関与が推測されている。MSI の主たる原因として知られている *hMLH1* 遺伝子のメチル化と染色体レベルでの不安定性に関与すると推測される分裂期前期チェックポイント遺伝子である *Chfr* 遺伝子のメチル化を解析し、胃癌発生への関与、意義について検討した。

【対象と方法】胃腺腫、分化型早期胃癌 52 症例 (男性 43 例, 女性 9 例) を Padova 国際分類に準じて再分類し、メチル化特異的 PCR を行って *Chfr*; *hMLH1* のメチル化の状態を検索した。また、*Chfr* および *hMLH1* のメチル化の状態とヌクレオチド不安定性の指標と考えられる MSI, 染色体不安定性の指標と考えられるヘテロ接合性の消失 (loss of heterozygosity; LOH), Padova 国際分類, 細胞形質, p53 免疫染色との関係を検討した。

【結果】*Chfr* および *hMLH1* のメチル化はともに約 35% の症例に検出された。*Chfr*; *hMLH1* のメチル化は同一症例に生じることが多かった ($p < 0.01$)。 *hMLH1* のメチル化と MSI は良く相関したが ($p < 0.01$)、*Chfr* のメチル化と LOH は相関しなかった。*Chfr*; *hMLH1* ともに低異型度腫瘍ではメチル化はほとんど認められないのに対して、高異型度腫瘍および浸潤癌では高率にメチル化が検出された。メチル化は胃型及び通常型の細胞形質を示す症例でみられ、完全腸上皮化生型の細胞形質を示す症例では認められなかった。メチル化の検出率は加齢とともに上昇した ($p < 0.01$)。また非癌部胃粘膜において *Chfr*; *hMLH1* のメチル化がみられた症例は全例 60 歳以上であった。

【結語】*Chfr*; *hMLH1* のメチル化は同時にみられることが多く、胃型及び通常型分化型癌の発生に関与しているものと考えられた。*hMLH1* のメチル化と MSI の相関は再確認されたが、*Chfr* と染色体不安定性の間には有意の関連が認められず、胃癌において *Chfr* は染色体不安定性の原因遺伝子ではないと考えられた。*Chfr*; *hMLH1* のメチル化は加齢に伴って非癌部胃粘膜にも生じており、胃癌の発生母地を形成している可能性が示唆された。

平成 18年 / 月 3 / 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 本間 直之

論文題目： Hypermethylation of *Chfr* and *hMLH1* in gastric noninvasive and early invasive neoplasias
(胃腫瘍における *Chfr* および *hMLH1* プロモーター領域のメチル化について)

審査委員：主審査委員

藤井 順逸 (印)

副審査委員

富永 真琴 (印)

副審査委員

川前 金幸 (印)

審査終了日：平成 18年 1月 23日

【 論文審査結果要旨 】

癌細胞にはヌクレオチドならびに染色体レベルで遺伝的不安定性が見られる。マイクロサテライト不安定性はヌクレオチドレベルで見られる現象で、*hMLH1* などの除去修復系の異常が原因と考えられているが、胃癌での頻度はさほど高くない。一方、染色体不安定性はほとんどの悪性腫瘍で見られる。その原因はまだ十分に解明されていないが、細胞分裂期のチェックポイントに関わる遺伝子の関与が推測されている。これまで幾つかのチェックポイント関連遺伝子と染色体不安定性との関わりが調べられたが、その関与を示す明確な証拠は得られていない。最近見いだされた分裂期前期チェックポイント遺伝子 *Chfr* には染色体凝集を抑えるなどの役割があり、肺や消化器の癌ではそのプロモーター領域にある CpG の高メチル化による発現異常が報告されている。本研究では、悪性度の異なる胃腫瘍における *hMLH1* と *Chfr* のプロモーター領域のメチル化を解析し、マイクロサテライト不安定性ならびに染色体不安定性と胃癌発生との関連について調べた。

方法としては、52 症例から得た胃腫瘍のパラフィン切片から DNA を抽出し、メチル化特異的 PCR 法により *hMLH1* と *Chfr* のプロモーター領域のメチル化を解析した。その結果を、マイクロサテライト不安定性・ヘテロ接合性の消失 (LOH)・細胞形質・ならびに主要な癌抑制遺伝子である p53 の免疫染色性と比較検討した。

hMLH1 と *Chfr* のメチル化の程度は、低異型度腫瘍に比べて高異型度腫瘍ならびに浸潤癌では高かった。しかし、*hMLH1* の高メチル化とマイクロサテライト不安定性は相関していたが、*Chfr* の高メチル化と染色体の LOH には有意差はなかった。p53 の発現は *hMLH1* と *Chfr* のメチル化のいずれとも相関しなかった。メチル化の程度は 70 歳以上の高齢者に高かった。これは、加齢により *Chfr* や *hMLH1* のメチル化が起り、それに伴い発症する胃腫瘍のある可能性を示唆している。以上のように胃腫瘍では、*Chfr* のプロモーター領域のメチル化と染色体不安定性の間には相関は認められず、当初たてた仮説は検証できなかった。しかし、他のチェックポイント遺伝子が関与する可能性は残されている。さらに、これらの遺伝子のメチル化が加齢に伴って増加し、それが原因となって胃腫瘍の発症する可能性のあることが示唆された。

本検討結果は胃癌発症に関する研究に新たな方向性を指し示しており、医学的に有用と考え、本論文が博士 (医学) の学位論文にふさわしいと判断した。

(1, 200字以内)