[別紙 2]

審　査　の　結　果　の　要　旨

氏　名　　南　谷　泰　仁

本研究は、造血器腫瘍において第七染色体長腕に存在する CpG アイランドのメチル化を網羅的に行ったもので、下記の結果を得ている。

1．　正常造血器細胞、患者検体、及び樹立細胞株より DNA を抽出し、Ensembl に登録されていた第七染色体長腕上の CpG アイランドのうち 128 個に対して、bisulfite sequence 法を用いて CpG dinucleotide のメチル化の程度を定量的に測定した。計算上、これらはゲノムの他の部位と比較すると明らかに高い%GC 及び Obs CpG/Exp CpG 値を示していた。

2．　正常細胞のメチル化は非常に低頻度であるが対照的に細胞株のメチル化は高頻度であり、患者検体のメチル化の頻度はその中間値をとることを示した。

3．　メチル化の感受性の高い（低い）CpG アイランドは、染色体上にランダムに分布しておらず、いくつかのクラスターを形成していることを示した。この分布パターンは、患者検体においてメチル化の程度が弱い傾向があるものの、造血器腫瘍検体の種類、由来の病名に関わらず共通であることも示した。

4．　検体のメチル化酵素 DNMT1,3a,3b の遺伝子発現量を real-time PCR 法で調べ、メチル化の程度との相関を調べた。DNMT1, 3a, 3b の発現量ともに、メチル化の程度との間に有意な相関が無いことを示した。

5．　正常細胞においては SP1 結合配列の密度が高いほどメチル化の頻度が低いという負の相関が見られることを示した。また、この相関は患者検体で減弱し、細胞株ではほぼ完全に消失することを示した。このことは、正常細胞においては CpG アイランドをメチル化から保護する機序が働いているが、腫瘍化するとこの機序が破綻することを示唆していると思わ

れた。

6． 遺伝子の 5'プロモータ領域を含む CpG アイランドと含まない CpG アイランドのメチル化の程度を調べたところ、前者の方がメチル化の程度が低いという事を示した。遺伝子の転写やタンパクの結合が DNA をメチル化から保護するという機序を示唆する結果となった。

以上、本論文は CpG アイランドの網羅的なメチル化解析を通じて、腫瘍検体、細胞株におけるメチル化の頻度、パターンについての新たな知見を示している。また、メチル化をコントロールする因子についての検討も行っており、正常細胞及び腫瘍細胞におけるメチル化の機序の解明について重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。