

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名：中川 徹

本研究は、尿路上皮がんの多段階発生過程や多様な発生経路に対応するさまざまな組織検体を用いて、(1) DNMT1 蛋白発現の変化ならびにその細胞増殖能との関係について検討すること、(2) 領域特異的な異常高メチル化ならびにその DNMT1 蛋白発現の変化との関係について検討すること、(3) 傍セントロメアサテライト領域の異常低メチル化ならびにその尿路上皮がんの特徴的な他の分子生物学的な変化との関係について検討することにより、尿路上皮がんの診断や治療に DNA メチル化の変化を利用することを将来的な視野に入れつつ、その基礎として尿路上皮の多段階発生過程における DNA メチル化の変化の意義についての理解を深めることを目的としたものであり、下記の結果を得ている。

<1>膀胱移行上皮の多段階発生過程における DNMT1 蛋白発現の変化

正常移行上皮・膀胱がん症例から採取した組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮・異形成上皮・移行上皮がんへと進展するに伴い DNMT1 蛋白発現は有意に亢進した ($p<0.0001$)。特に、前がん段階にある可能性のある膀胱がん症例の組織学的に特記すべき所見のない上皮において既に正常移行上皮に比べて DNMT1 の発現の有意な亢進が見られた ($p<0.0001$)。膀胱がん症例から採取した組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮では DNMT1 の発現と PCNA 標識率の間に有意な相関は見られなかった。非乳頭状がんは乳頭状がんに比べて DNMT1 を有意に高発現しており ($p=0.0001$)、非乳頭状がんの中でも特に DNMT1 を高発現していたのは悪性度の高い結節性浸潤がんの前駆病変である広汎進展上皮内がんであった。

<2>膀胱移行上皮の多段階発生過程における CpG アイランドの DNA メチル化の変化、ならびにその DNMT1 蛋白発現の変化との関係

正常移行上皮、膀胱がん症例から採取した組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮、移行上皮がんにおける各 CpG アイランドの DNA メチル化の頻度はそれぞれ p16 (0%, 17%, 21%)、DAPK (13%, 33%, 29%)、MINT2 (56%, 60%, 76%)、MINT12 (0%, 6%, 30%)、MINT25 (25%, 27%, 35%)、MINT31 (45%, 56%, 79%) であり、概ね正常移行上皮から前がん状態にある組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮、移行上皮がんへと進展するにつれて各 CpG アイランドの DNA メチル化の頻度は亢進していた。

3 箇所以上の CpG アイランドが同時にメチル化される事象の頻度は、正常移行上皮から、膀胱がん症例から採取した組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮、移行上皮がんへと進展するにつれて有意に亢進し ($P=0.0043$)、特に膀胱がん症例か

ら採取した組織学的に特記すべき所見を示さない移行上皮の段階で既に正常移行上皮と比較して有意に亢進していた ($P=0.0455$)。CpG アイランドメチル化形質 (CIMP; がんにおいて同時に 3 箇所以上の CpG アイランドがメチル化されるとき CIMP 陽性と定義) は乳頭状がんに対して非乳頭状がんにおいて有意に高頻度に見られた ($P=0.0143$)。全検体を用いて検討したとき、同時に 3 箇所以上の CpG アイランドがメチル化される事象は DNMT1 蛋白発現の亢進と有意に関連していた ($P=0.0167$)。

<3>尿路上皮がんにおける低メチル化の意義

サテライト 2・3 の低メチル化はそれぞれ非がん組織の 7%・0%、尿路上皮がんの 41%・44%に見られ、がんの組織学的異型度 ($P=0.0012, 0.0043$)、深達度 ($P=0.0055, 0.0228$)、組織構築 (乳頭状がん対結節性浸潤がん、 $P=0.0161, 0.0297$) と有意に関連していた。少なくとも 1 箇所以上のマイクロサテライトマーカーにおける LOH は移行上皮がんの 52%に認められ、サテライト 2・3 の低メチル化との間に有意な相関が見られた ($P=0.0098, 0.0034$)。

以上、本論文は、DNMT1 蛋白発現の亢進は単に細胞増殖能の亢進に伴う二次的なものではなく、膀胱尿路上皮の多段階発がん過程において細胞増殖能の亢進に先行し、多数の CpG アイランドのメチル化の亢進を惹起する可能性があること、DNMT1 蛋白発現ならびに CpG アイランドにおける DNA メチル化はともに、尿路上皮における多段階発がん過程早期の前がん段階から既に亢進し、特に乳頭状がんが発生する過程よりも広汎進展上皮内がんを経て悪性度の高い結節性浸潤がんが発生する過程に寄与する可能性があること、尿路上皮がんにおいて傍セントロメアサテライト領域の低メチル化は、尿路上皮がんを高頻度に見られる 9 番染色体の LOH の原因となっている可能性があることを明らかにした。本研究は、これまで知見の乏しかった尿路上皮の発がん過程における DNA メチル化の変化の解明に重要な貢献をなし、将来の DNA メチル化のがん診断・治療への応用の基礎となるものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。