

審査の結果の要旨

氏名 佐野 厚

本研究は癌に特異的に起こる CpG アイランドの過剰メチル化について、定量的解析を行い、その解析を肺癌切除組織に対しておこなったものであり、下記の結果を得ている。

1. 特異性の高い TaqMan MGB を採用し、メチル化 DNA・非メチル化 DNA に対応した 2 つのプローブを作成した。CpG アイランドについて解析に適切な CpG の部分を実験および過去の文献を参考に検討し、決定した。解析方法は QAMA を採用し、10 の肺癌でメチル化の変化の起こる遺伝子について、プライマーおよびプローブを作成した。
2. QAMA の特異性・感度はすぐれたものであるが、さらに我々は特異度・感度を高める工夫を行った。そうして作成されたプライマーおよびプローブはゲノム中の 1% のメチル化 DNA を検出し得る感度を持ち、メチル化 DNA を含まないゲノムからは偽陽性も起こさない高い特異度を持つ系であることを確認した。
3. 肺癌の切除例 90 例に対してこの方法を用いて 10 遺伝子についてメチル化解析を行ったところ、6 のグループに分類され、このグループ間で異なった臨床的背景を持つグループに分類された。
4. 定量的メチル化解析によるデータと、EGFR 遺伝子変異について比較を行ったところ、p16 異常メチル化と EGFR 遺伝子変異が排他的であるという過去の報告の追試が確認された。また、他の遺伝子の異常メチル化と EGFR 遺伝子変異の間には関係がないとの結果が得られた。
5. 肺癌切除例の中には 4 例の 2 病変を持つ症例が含まれた。この 4 例の 2 病変についてメチル化パターンを比較したところ、2 例で同じパターン、2 例で異なったパターンであった。よって同じメチル化パターンの 2 例は単一の肺癌の肺内転移、異なったメチル化パターンの 2 例は同時多発肺癌と、メチル化パターンからは診断された。

以上、本論文は癌におけるメチル化解析において、高い特異度と感度を持ち合わせる QAMA を初めて多数遺伝子に応用し、肺癌切除検体の解析へと応用し、メチル化パターンによる癌の臨床応用についてを報告したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。