

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 菊山 みずほ

本研究はDNAメチル化異常によって不活化される乳癌の新規癌抑制遺伝子を同定するために、正常細胞でRNAポリメラーゼ II (Pol II) が結合し、ヒストン H3 の 27 番目リジン残基のトリメチル化 (H3K27me3) を認める遺伝子は癌細胞でメチル化抵抗性を示すという規則に従わずにメチル化されている outlier 遺伝子をゲノム網羅的に探索することを試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. DNAメチル化異常によって不活化されている既知の乳癌癌抑制遺伝子 *BRCA1*、*CDKN2A*、*HOXA5*、*MASPIN*、*RASSF1A*、*RBPI* の正常乳腺上皮細胞 (HMEC) における Pol II 結合と H3K27me3 レベルの解析から、*BRCA1*、*HOXA5*、*MASPIN* は、高い Pol II 結合レベルと低い H3K27me3 レベルを示した。このことから、一部の癌抑制遺伝子は outlier 遺伝子であることが示された。
2. 2つの HMEC 及び5つの乳癌細胞株のゲノム網羅的メチル化解析から、HMEC ではメチル化されておらず、2つ以上の乳癌細胞株でメチル化されている 280 個のメチル化高感受性遺伝子が同定された。次に、このメチル化高感受性遺伝子の HMEC における Pol II 結合及び H3K27me3 レベルのゲノム網羅的解析から、Pol II 結合レベルが高く、H3K27me3 レベルが低い 14 個の outlier 遺伝子が同定された。
3. 乳癌細胞株及び乳癌検体における outlier 遺伝子の定量的メチル化解析から、4 遺伝子 (*DZIP1*、*FBN2*、*HOXA5*、*HOXC9*) が乳癌検体でもメチル化を認めた。この 4 遺伝子のうち、*HOXA5* は乳癌、*FBN2* は腎細胞癌において癌抑制遺伝子と報告されていた。ゲノム網羅的に同定された outlier 遺伝子に、既知の癌抑制遺伝子が含まれていたことから、outlier 遺伝子を探索することによって癌抑制遺伝子が同定できることが示された。
4. DNAメチル化と発現に負の相関がみられた *DZIP1* を short hairpin RNA (shRNA) を用いてノックダウンしたところ、ノックダウンした *DZIP1* が発現している乳癌細胞は、コントロールの shRNA が発現している乳癌細胞に比べて、1.5~2 倍の細胞増殖促進が認められた。したがって、*DZIP1* は乳癌における新規の癌抑制遺伝子である可能性が示唆された。
5. *DZIP1* の DNAメチル化と臨床病理学的所見の関連では、エストロゲンレセプター陽性例には *DZIP1* のメチル化ありの症例が少ない傾向にあった。無再発生存率と全生存率との相関は認めなかったが、予後のよい乳癌とされているエストロゲンレセプター陽性例に *DZIP1* のメチル化が少ないことから、乳癌の悪性度に関与している可能性があ

ると考えられた。

以上、本論文は *DZIP1* が乳癌における新規の癌抑制遺伝子の可能性があることを示したものである。本研究は、数多くのメチル化された遺伝子群から、メチル化の規則に従わない outlier 遺伝子を探索する新しい方法で新規癌抑制遺伝子候補を同定できたこと、また、新規癌抑制遺伝子を同定することで、乳癌の層別化や治療などに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。