

氏名(本籍)	菊池慎二(茨城県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第4065号		
学位授与年月日	平成18年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	Promoter Methylation of <i>DAL-1/4.1B</i> Predicts Poor Prognosis in Non-Small Cell Lung Cancer (DAL-1/4.1 B 遺伝子プロモーター領域のメチル化解析による原発性非小細胞肺癌の予後予測)		
主査	筑波大学教授	博士(医学)	大根田 修
副査	筑波大学教授	医学博士	大塚 藤 男
副査	筑波大学助教授	博士(医学)	石井 朝 夫
副査	筑波大学講師	医学博士	寺島 秀 夫

論文の内容の要旨

(目的)

DAL-1/4.1B はがん抑制蛋白質 TSLC1/IGSF4 とアクチンとを結合する蛋白質で、肺がんでの発現低下が報告されているが、遺伝子不活化の分子機構は明らかではない。本研究では、肺がんにおける *DAL-1* 遺伝子のメチル化について検討した。

(方法)

原発性非小細胞肺癌 103 例と同一肺の非がん部肺組織、及び培養肺癌細胞 18 例よりゲノム DNA、全細胞 RNA を抽出した。*DAL-1* 遺伝子の発現の有無はノーザン・ブロット解析及び RT-PCR 解析にて、メチル化の有無は重亜硫酸処理後の塩基配列決定法及び SSCP 解析にて決定した。またヘテロ接合性消失(LOH)の有無は、5 箇所の一塩基多型マーカーによる SSCP 解析を用いて決定した。

(結果)

RT-PCR 解析では非小細胞肺癌細胞株 11 例中 7 例、小細胞肺癌細胞株 7 例中 1 例に *DAL-1* の発現欠如を認めた。発現欠如は *DAL-1* 遺伝子プロモーター領域の転写開始点より -64 ~ +28 塩基対上流の限られた断片のメチル化と非常に強く相関していた。発現欠如を示す培養細胞を 5-aza-2'-deoxycytidine で処理すると発現の回復が認められた。一方、原発性非小細胞肺癌では *DAL-1* 遺伝子のメチル化を 103 例中 59 例(57%)に認めた。扁平上皮がんでは比較的初期の段階からメチル化を認めるのに対し、腺がんでは進行するに従ってメチル化の頻度が有意に上昇した(stage I: 36 例中 13 例, 36%, stage II: 12 例中 4 例, 33%, stage III: 17 例中 14 例, 82%, stage IV: 3 例中 3 例, 100%) (p=0.0026) (さらに、肺腺がん 68 症例の無再発生存期間を Kaplan-Meier 法で比較したところ、*DAL-1* のメチル化を示した腫瘍は有意に予後不良であった(p=0.0011))。 *DAL-1* 遺伝子の局在する 18p11.3 領域の LOH は 100 例中 39 例(39%)に認められた。メチル

化を示す腫瘍 57 例中 21 例（37%）は LOH を伴い，残りの 36 例（63%）は両アレルのメチル化による遺伝子の不活化が示唆された。

（考察）

TSLC1 と DAL-1 蛋白質は正常肺上皮細胞で複合体を形成し，細胞間接着及び細胞骨格を制御して上皮細胞の正常性を保ち，腫瘍形成を抑制していると考えられる。今回の解析により *DAL-1* 遺伝子のメチル化による不活化が非小細胞肺癌で高頻度に認められることが明らかになり，TSLC1 遺伝子とともに肺癌進行の標的分子となっていることが示唆された。

（結論）

DAL-1 遺伝子不活化の分子機構としてプロモーター領域のメチル化が重要であり，その定量的な検出に bisulfite-SSCP 解析が有効であった。原発性非小細胞肺癌において *DAL-1* のメチル化を 57% に認め，肺腺がんではがんの進展に関与していると考えられた。*DAL-1* のメチル化は肺腺がん患者において予後を規定するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究では，がん抑制遺伝子として作用することが予想される *DAL-1/4. 1B* のプロモーター領域のメチル化の有無に関して，メチル化部位の同定およびその程度について独自の方法を用いて原発性非細胞肺癌を用いて解析を行っており，手技的には評価される内容である。ただし，*DAL-1/4. 1B* のプロモーター領域のメチル化解析によって直接的に原発性非小細胞肺癌の予後を規定することは現段階では不可能であり，本研究の結果は，予後を示唆する情報を提供するものであると考えられる。

よって，著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。