

| | | | |
|---------|---|---------|--------|
| 氏名 | 諸山 恵 | | |
| 学位の種類 | 博 士 (理学) | | |
| 学位記番号 | 博 甲 第 8330 号 | | |
| 学位授与年月日 | 平成 29年 7月 25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 | 生命環境科学研究科 | | |
| 学位論文題目 | Relationship of Aberrant DNA Methylation in Inheritable and Sporadic Endometrial Cancer Carcinogenesis (遺伝性・散発性子宮体癌の発癌における DNA 異常メチル化の関わり) | | |
| 主査 | 筑波大学准教授 | 博士 (理学) | 桑山 秀一 |
| 副査 | 筑波大学教授 (連携大学院) | 理学博士 | 阿部 訓也 |
| 副査 | 筑波大学教授 | 博士 (医学) | 千葉 智樹 |
| 副査 | 筑波大学准教授 | 博士 (理学) | 中野 賢太郎 |

論 文 の 要 旨

審査対象論文は、子宮体癌の発癌機構に対して、エピジェネティクスの観点から、検討を加えたものである。本論文は、General Introduction, 第1章、第2章、General Discussionという構成になっており、第1章では、子宮体癌発症に深い関わりをもつ、DNAミスマッチ修復関連遺伝子におけるエピメューテーションの探索、第2章では新規のエピメューテーションの同定に関する実験結果が記されている。エピメューテーションとは、DNA塩基配列に変異が入る通常のエピメューテーションとは異なり、DNA配列そのものには変化は無く、DNAメチル化などのエピジェネティック修飾に変化が起きた結果、遺伝子発現に影響を及ぼし、場合によっては疾患発症に結びつく、という異常なゲノム修飾のことを指す。また、エピメューテーションは、細胞世代を越えて伝達され、場合によっては、世代間を伝達する可能性が示唆されており、遺伝性腫瘍の未知の原因となっている可能性がある。本論文の著者は、遺伝性の子宮体癌に対するエピメューテーションの関与を調べることを目的として研究を行い本論文をまとめた。第1章では、遺伝性子宮体癌の大部分を占めるLynch症候群の原因遺伝子である3種類のミスマッチ修復遺伝子プロモーター領域におけるDNAメチル化を、子宮体癌患者106人の正常組織である末梢血ゲノムDNAを用いて検索した結果が述べられている。ミスマッチ修復遺伝子のプロモーター領域DNAは、正常組織では通常メチル化を受けておらず、癌部では高メチル化されていることが多い。したがって、末梢血DNAでプロモーター領域にメチル化が増大していれば、エピメューテーションの可能性が高い。しかし、本論文の著者による検索の結果、すべての検体において、異常DNAメチル化は検出されず、今回検

討した106人の症例では、少なくともミスマッチ修復遺伝子におけるエピメューテーションは存在しないことがわかった。一方、遺伝子配列解析等の結果、2例においてミスマッチ修復遺伝子にミューテーションが発見され、この2例はLynch症候群と確定された。

第2章では、ミスマッチ修復遺伝子以外にエピメューテーションが存在するかを検討するため、正常組織と癌部の組織がペアで揃っている25例の検体に関して、次世代シーケンサーを用いたDNAメチル化解析技術によって、ゲノムワイドなDNAメチル化状態を調べている。子宮体癌は、異常なDNAメチル化が高頻度で検出されるCIMP (CpG island methylator phenotype)陽性と、異常DNAメチル化がそれほど顕著ではない、CIMP陰性の二つに分類される。しかし、CIMP陽性、陰性の子宮体癌それぞれで、どのようにDNAメチル化パターンが異なっているかについては殆ど不明なままであった。本論文の著者は、ほぼすべてのヒト遺伝子のプロモーター領域などの発現制御領域におけるDNAを、メチル化塩基を検出するためにバイサルファイト処理後、次世代シーケンサーによって配列を決定し、メチル化の有無を解析した。さらに情報学的解析手法を用いてDNAメチル化量を算出し、CIMP陽性、陰性患者の末梢血と癌部におけるDNAメチル化レベルの比較を行った。その結果、マイクロRNAをコードするmiR663a遺伝子のプロモーター部分のDNAメチル化がCIMP陽性患者の末梢血DNAでCIMP陰性患者に比べて亢進していることを発見した。また、癌部では、CIMP陽性、陰性ともmiR663a遺伝子プロモーターのDNAメチル化が非常に高まっていることを見出した。miR663aプロモーター領域は、健常人の各組織ではメチル化を受けていないこと、また先行研究によってmiR663aの発現低下と乳癌発症との関連が示唆されていたが、本研究によって、miR663aにおける異常DNAメチル化が子宮体癌、特にCIMP陽性子宮体癌の発症と相関が高いことが初めて示された。一方、健常人のmiR663aプロモーターはメチル化を受けておらず、CIMP陽性患者の末梢血でメチル化が増加していた。このことから、末梢血におけるmiR663aプロモーターのDNAメチル化を調べることによって、将来の発癌を予測できる可能性も示唆された。

以上のように、本論文は、CIMP陽性子宮体癌の発症機構解明の糸口として、miR663aの異常DNAメチル化、すなわちエピメューテーションを初めて報告するものであり、分子生物学、基礎医生物学、さらには癌の早期診断などの応用面への発展につながる成果と考えられる。

審 査 の 要 旨

本論文は、子宮体癌の発症と異常 DNA メチル化の関連を追究した成果を示したものであり、一部の子宮体癌患者の正常組織において、マイクロ RNA をコードする miR663a 遺伝子のプロモーター部分に異常 DNA メチル化を初めて見出し、報告した点において新規性が高い。この異常 DNA メチル化が発見された 2 例はいずれも、癌部において異常 DNA メチル化が高頻度で検出される CIMP 陽性の症例であり、miR663a などの癌関連遺伝子の異常 DNA メチル化が CIMP 陽性子宮体癌発症の糸口となっている可能性を示したことは特筆に値する。さらに、この異常 DNA メチル化、すなわちエピメューテーションの発見は、癌の早期診断や新しい治療法の開発などへの発展につながる可能性を示した点で科学的かつ応用的にも価値が高い。

平成29年5月17日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものとして認める。