

氏名	Hiromi Sasamoto Hara
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 号
学位授与の日付	平成16年12月31日
学位授与の要件	医学研究科外科系外科学（一）専攻 （学位規則第4条第1項該当）
学位論文題目	Allele-specific methylation analysis on upstream promoter region of <i>H19</i> by methylation-specific PCR with confronting two-pair primers (2組の直面式プライマーによるメチル化特異的PCR法を用いた <i>H19</i> 遺伝子プロモーター上流領域のアリル特異的メチル化の解析)
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 許 南浩 助教授 富澤 一仁

#### 学位論文内容の要旨

*H19* と *IGF2* 遺伝子は刷り込み遺伝子であり、どちらの親から遺伝したかにより異なった発現を示す。*IGF2* 遺伝子は父方のアリルから、そして *H19* 遺伝子は母方のアリルから発現している。*H19* 遺伝子の上流には刷り込み支配領域（CTCF-蛋白の結合領域）が存在し、DNA メチレーションによってコントロールされている。この領域に於ける刷り込み遺伝子の異常は多数報告されている。大腸癌では CTCF-結合領域の両アリルのメチル化、一方膀胱癌ではこの領域の低メチル化が報告されている。このように、ある特定のヒト腫瘍では、*H19* 遺伝子の上流にある ICR で、高あるいは低メチル化を示す。しかしこのような複雑な仕組みが判っていないながら、実際にアリル特異的に、刷り込み遺伝子の ICR の異常を解析するのは困難である。今回、我々はバイサルファイト処理と 2 組の直面式プライマーを用いた PCR を組み合わせることによって、母方と父方の両アリルのメチレーションを1回のPCRで検出可能な新しい検出法を報告する。我々はこの検出法で、161 症例の大腸癌と 65 症例の胃癌症例を用いて *H19* の ICR の近辺の領域のアリル特異的なメチル化の異常を解析した。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は両親に由来する 1 組の対立遺伝子の何れかがエピジェネティックなプロモーター領域のメチル化によって発現制御される、いわゆる「刷り込み」の現象を大腸癌と胃癌に関する *H19* 遺伝子について解析するための新しいアレル特異的メチル化解析法を開発したものである。本研究者は *H19* 遺伝子の刷り込みに関係するプロモーター領域の CpG アイランドの亜硫酸処理と、その近傍にある 1 塩基多型 (SNP) を 2 組の直面式 (Confronting) プライマーによる PCR によって解析する新しい方法を開発した。その方法を大腸癌 161 例、胃癌 65 例の検体について適用して、大腸癌 59 例、胃癌 19 例が実際にその SNP でヘテロであり、刷り込み関連配列 (ICR) のメチル化に関して情報を得ることが可能であることを示した。結果的には癌特異的な刷り込み異常はこれらのアレル分別可能な症例では見出せなかったが、これまで非常に困難とされていた両親由来の遺伝子アレルを識別してそのメチル化を解析するという方法は確立することができた。

以上のように、本研究は癌化に関係する遺伝子群の刷り込みに関わる新しいアレル特異的メチル化解析法を開発したもので、意義ある研究成果と認めた。

よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。