

氏名	河合 央
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 3054 号
学位授与の日付	平成18年3月24日
学位授与の要件	医学研究科外科系外科学（二）専攻 （学位規則第4条第1項該当）
学位論文題目	Promoter methylation downregulates <i>CDX2</i> expression in colorectal carcinomas （大腸癌ではプロモーター領域のメチル化により <i>CDX2</i> の発現が抑制される）
論文審査委員	教授 清水 憲二 教授 筒井 研 助教授 那須 保友

学位論文内容の要旨

大腸癌細胞株と切除標本で *CDX2* のメチル化と発現の状態を解析した。*CDX2* 遺伝子のプロモーター領域には2箇所の CpG-rich な部分があり、まず COBRA（バイサルファイト処理制限酵素法）でスクリーニングを行うと、上流域の CpG 領域はすべての細胞株で高度にメチル化されていた。下流域では限られた細胞株のみでメチル化が認められた。シーケンスにより細かく CpG のメチル化を確認し RT-PCR で発現を調べると、下流域のメチル化が *CDX2* の発現抑制と関係があることがわかった。5-aza-2'-deoxycytidine でメチル化があった細胞株 COLO201 に脱メチル化を起こすと *CDX2* 遺伝子発現が回復することが確認され、メチル化により遺伝子発現の抑制が起こっていることが確認された。MSP（メチル化特異的 PCR）法で大腸癌切除標本のプロモーター領域のメチル化を調べると、40%近くの症例で *CDX2* 遺伝子にメチル化が起こっていた。大腸癌において *CDX2* のメチル化はしばしばみられ、*CDX2* の不活化に重要な役割を果たしていると考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は大腸癌細胞株と切除大腸癌標本における *CDX2* 遺伝子プロモーター領域のメチル化とその発現状況を解析したものである。本研究者は *CDX2* 遺伝子プロモーター領域には2ヶ所のメチル化される CpG アイランドがあり、塩基配列決定と RT-PCR 法で調べると、下流の CpG アイランドのメチル化が発現抑制に関与することを見出した。メチル化と発現抑制が顕著であった細胞株 COLO201 を 5-aza-dCR で脱メチル化すると、*CDX2* 遺伝子発現が顕著に回復することが判り、このプロモーターメチル化が本遺伝子の発現制御に重要な役割を果たすことが証明された。さらに、大腸癌細胞株と切除大腸癌標本について、このメチル化を亜硫酸処理によるメチル化特異的 PCR 法によって解析した。その結果、約 40% の症例で *CDX2* 遺伝子プロモーター領域のメチル化が起こっていることを発見した。*CDX2* 遺伝子の発現変化はこれまで大腸癌、胃癌、食道癌等で報告されており、プロモーターメチル化による発現抑制を見出した報告は本研究が初めてのものである。

以上のように、本研究は大腸癌に関係する転写制御遺伝子 *CDX2* のプロモーターメチル化に関して新しい知見を得たもので、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。