

学位授与番号	甲第 1821 号
学位授与年月日	平成 18 年 12 月 31 日
氏 名	太田 尚宏
学位論文題目	Prognostic Significance of p16 <sup>INK4a</sup> Hypermethylation in Non-small Cell Lung Cancer is Evident by Quantitative DNA Methylation Analysis (DNA のメチル化を定量分析する事により、非小細胞肺癌における P 16 の異常メチル化の予後に関する重要性を明らかにする)
論文審査委員	主 査 教 授 中尾 眞二 副 査 教 授 太田 哲生 源 利成

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

遺伝子プロモーターの異常メチル化はヒト癌で高頻度に観察される変化であり、腫瘍形成において重要な役割を果たしていると考えられる。プロモーターのメチル化は癌抑制遺伝子のサイレンシングに関与することから、予後マーカーとしても有用である可能性が示唆されている。P16<sup>INK4a</sup> はプロモーターの異常メチル化によってしばしば機能を停止する癌抑制遺伝子である。現在まで P16<sup>INK4a</sup> メチル化と非小細胞肺癌 (NSCLC) の予後に関する研究が methylation specific PCR 法 (MSP) を用いた定性的解析法で複数行なわれているが、一致した結果は得られていない。明確な結論が得られていない一因として DNA メチル化解析方法の問題が考えられる。これまでの解析法は定性的方法であり、臨床的に意味のない微量なメチル化を検出している可能性がある。本研究では P16<sup>INK4a</sup> メチル化を MethyLight 法による定量法を用いて評価し解析した。NSCLC 患者 244 例のホルマリン固定パラフィン包埋標本より腫瘍サンプルを得た。Real-time methylation specific PCR 法 (MethyLight) によってメチル化を定量した。得られた結果は以下のように要約される。

1. P16<sup>INK4a</sup> メチル化値は男性および扁平上皮癌においてそれぞれ女性、他の組織型に比べて有意に高値であった。
2. 予後解析では P16<sup>INK4a</sup> メチル化値が有意な予後因子であることが示された。多変量解析では年齢、性別、臨床病期と共に P16<sup>INK4a</sup> メチル化値が有意な予後不良因子であった。
3. 予後因子として臨床的意義を持つ P16<sup>INK4a</sup> のメチル化値を探索する目的で、メチル化に 1 から 100 のカットオフ値を設定しメチル化群と非メチル化群に分類したところ、PMR (percentage of methylated reference) が 1 ではメチル化群と非メチル化群の間で予後に有意差はなかった。一方、6 以上の PMR では両群に明らかな有意差が見られた ( $P < 0.01$ )。したがって微量なメチル化には予後因子として意義はないことが示唆された。

本研究の結果から、NSCLC において P16<sup>INK4a</sup> の DNA メチル化は予後因子となることが示唆された。PMR のカットオフ値が 6 以上の場合には明確な差を認めた。本研究で用いたメチル化解析は DNA を用いた定量法であることから、アッセイの安定性の点からも臨床応用に際して有利であると思われる。

本研究は非小細胞肺癌における P16<sup>INK4a</sup> の DNA メチル化の意義を初めて明らかにしたものであることから学位に値すると判断された。