

学位授与番号	甲第 1640 号
学位授与年月日	平成 16 年 6 月 30 日
氏 名	平 沼 知加志
学位論文題目	Hypermethylation of the MYOD1 gene is a novel prognostic factor in patients with colorectal cancer (MYOD1 遺伝子の Hypermethylation は新しい大腸癌予後因子である)
論文審査委員	主 査 教 授 源 利 成 副 査 教 授 三 輪 晃 一 教 授 澤 武 紀 雄

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

【目的】細胞の分化, 増殖に関与する MYOD1 の promoter hypermethylation(HM)は多くの腫瘍細胞で認められ, 癌の生物学的特性を判定する一因子となり得る。しかし, 従来の定性分析では予後因子としてのメチル化を評価することが困難であった。今回, メチル化の定量分析である Real-time methylation specific PCR (MethyLight) 法により MYOD1 メチル化を測定し, 大腸癌の臨床病理学的因子および予後との相関を解析した。

【対象と方法】病理組織学的に原発性大腸癌と診断された腫瘍組織 80 検体と, 腫瘍に隣接した肉眼的正常粘膜 74 検体を対象とした。抽出した DNA を bisulfite 処理し, MethyLight 法で methylation level を定量した。メチル化の程度を percentage of methylated reference (PMR) として算出し, 臨床病理学的因子や予後との関連を統計学的に検定した。また, methylation specific PCR (MSP) による定性分析も行った。

【結果】MYOD1 の PMR は腫瘍において有意に高く ( $p < 0.0001$ ), 正常粘膜 ( $p = 0.016$ ), 腫瘍組織 ( $p = 0.002$ ) ともに高齢者において高値であった。腫瘍における PMR は有意な予後因子であり (オッズ比 1.003, 95%CI 1.001-1.005,  $p = 0.0048$ ), Maximal カイ 2 乗検定により PMR27 が大腸癌術後の予後を決定する cut-off 値に選択された。PMR27 以上を HM とすると MYOD1 HM ありの患者は有意に予後不良であった ( $p = 0.0077$ )。多変量解析では, 腫瘍部位と PMR が独立した有意な予後因子であった。MSP による定性分析では PMR10 以上がすべて HM と判定され, MYOD1 メチル化と予後との関連を示すことができなかった。

【考察】MYOD1 メチル化の成因には加齢に関連するものと癌特異的なものがあると考えられる。MethyLight はメチル化状態を自動解析できることから, 臨床応用に適した解析手法である。

【結論】(1) MYOD1 メチル化は腫瘍, 正常組織ともに年齢との相関を認めた。(2) 大腸癌組織において MethyLight 法により検出される MYOD1 HM は年齢とは独立した予後不良因子であった。(3) MYOD1 メチル化の臨床的意義は MethyLight 法を用いた定量解析により明らかとなった。

本研究は MethyLight 法によりはじめて MYOD1 メチル化定量解析が大腸癌診療, とくに予後判定に応用できる可能性を明らかにしたものであり, 学位授与に相応しい成果であると判定された。