




Genome-wide analysis of DNA methylation array and microarray in human oral epithelial cells stimulated by arecoline for prolong period - Involvement of aberrant expression of DUSP4 gene in betel quid chewing related oral cancer

著者	Bhoj Raj Adhikari
学位名	博士（歯学）
学位授与機関	北海道医療大学
学位授与年度	平成30年度
学位授与番号	30110甲第306号
URL	http://id.nii.ac.jp/1145/00064676/

平成31年1月29日

学位論文審査並びに最終試験結果報告書

大学院歯学研究科長 殿

主査 千葉逸朗 
副査 荒川俊哉 
副査 奥村一孝 

今般 Adhikari Bhoj Raj にかかわる学位論文審査並びに最終試験を行い下記の結果を得たので報告する。

記




1 学位論文題目

Genome-wide analysis of DNA methylation array and microarray in human oral epithelial cells stimulated by arecoline for prolong period -Involvement of aberrant expression of DUSP4 gene in betel quid chewing-related oral cancer-

- | | |
|-------------|------------|
| 2 論文要旨 | 別添 |
| 3 学位論文審査の要旨 | 別添（様式第12号） |
| 4 最終試験の要旨 | 別添（様式第13号） |

以上の結果 Adhikari Bhoj Raj は博士（歯学）の学位を授与する資格のあるものと判定する。

学位論文審査の要旨

主査 千葉 逸朗 
副査 荒川 俊哉 
副査 奥村 孝 

氏 名 Adhikari Bhoj Raj

学位論文題目

Genome-wide analysis of DNA methylation array and microarray in human oral epithelial cells stimulated by arecoline for prolong period -Involvement of aberrant expression of DUSP4 gene in betel quid chewing-related oral cancer-

以下本文（15行目から1000字以内）

本論文は、南アジアで行われているbetel quid chewing によって発症する口腔がんの発がんメカニズムの解析を行うことである。

betel quid chewingによって様々な遺伝子異常が起こることが明らかになっているが、申請者はDNA methylation に注目し、歯肉培養細胞を用いて、betel quid chewingの発がん成分の一つであるarecolineを培養液に定期的に加えるbetel quid chewing の*in vitro* モデルを用いて、その遺伝子の発現の変化について解析した。

DNA microarrayという手法を用いて、遺伝子のCpG islandががhypermethylationの状態になることにより遺伝子のmRNAがdown-regulationされるものを選択した。その中で、腫瘍抑制遺伝子の一つと考えられているDUSP4 (Dual-Specificity Phosphatase-4) 遺伝子に注目した。培養口腔がん細胞ではarecolineを投与しなくても構成的にMethylationレベルは高く、逆にmRNAレベルは低下していた。しかしながら、口腔がん細胞を用いた免疫染色で確認すると、タンパクレベルでDUSP4の蓄積が認められた。これは一見矛盾する結果と思われるが、p53など多くの腫瘍抑制遺伝子で見られる現象であり、異常タンパクが蓄積していると考えられる。本来であれば、培養歯肉細胞を用いたモデルでWestern blotなどを行うことにより、タンパクレベルでの検索をすべきであるが、これは今後の課題とした。

以上より、DUSP4はarecolineのターゲットとなっている可能性があり、betel quid chewingによって発症する口腔がんの発がん過程で重要な役割を持つ可能性を示唆したものであると同時に、betel quid chewingによって誘発される口腔がんの予防を考える上で重要なマーカーとなり得るものである。従って、学位論文として非常に価値のあるものであると思われる。

最終試験（学力の確認）の要旨

主査	千葉 逸朗	印
副査	荒川 俊哉	印
副査	奥村 一彦	印
副査		印

氏 名 Adhikari Bhoj Raj

以下本文（10行目から200字以内）

学位論文の内容に基づき、あらかじめ査読した上で、平成30年12月3日に主査、副査によるインタビューを行い、問題点、疑問点などを指摘した。これらの点に対して的確に回答を得るとともに、それに基づいて論文を数回にわたり加筆、修正した。

その結果、学位論文としての質が十分確保でき、総合的に学位を授与するに十分な学力があると判断した。