

Robust quantitative assessments of cytosine modifications and changes in the expressions of related enzymes in gastric cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2015-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 杜, 春平 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/2899

論文審査の結果の要旨

発がんに関連するシトシンのメチル化は、一度メチル化したら戻す経路は細胞内に無いと考えられていたが、近年、5-methylcytosine が酸化されて 5-hydroxymethylcytosine (5-hmC) となり、さらに 5-formylcytosine、5-carboxycytosine を経由して、チミン DNA グリコシラーゼ (TDG) によって塩基除去修復を受けてシトシンにもどる経路が発見された。この前半の酸化を司る酵素群が ten-eleven translocation (TET) であり、この酸化反応は α -ケトグルタル酸に依存し、その生成にはイソクエン酸デヒドロゲナーゼ (IDH) 1, 2 が関与する。

申請者は、胃がんおよび健常胃粘膜において、先述した経路がどのように働いているかを調べた。すなわち、シトシン修飾塩基を液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析 (LC-MS/MS) によって定量解析し、関連する酵素 TET1-3, TDG, IDH1, 2 を定量的 RT-PCR で測定して、それらの関係、および臨床病理学的な指標と比較した。

58 例の胃癌症例検体を対象とし、同位体標準品を内部標準として定量する LC-MS/MS を確立して測定したところ、5-hmC が腫瘍部で有意な減少を認め、リンパ節転移との関連を認めた。定量的 RT-PCR では TET1, TET2, TET3, TDG, IDH2 は腫瘍部で有意に発現が低下しており、IDH2 の低下がリンパ節転移や腫瘍の深達度と関連していることをつきとめた。さらに、TET1-3 を HEK293T 細胞に導入したところ、TET1, TET2 は 5-hmC を増加させた。また、胃がん患者検体で TET1-3 の DNA シーケンスを調べたところ胚細胞変異を認めたため、これらの導入実験を行ったが、5-hmC を変化させるものではなかった。

審査委員会は、申請者が 5-hmC などの修飾塩基を従来のドットブロット法などとは異なり、定量性の高い LC-MS/MS 法を新規に確立し、胃がん患者検体の測定に応用したこと、代謝酵素群の発現や臨床病理学的因子と比較し初めての知見を得たことを高く評価した。

以上により、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 前川 真人

副査 尾島 俊之

副査 杉本 健