

学 位 論 文 要 旨

氏 名 久保田 陽



論 文 題 目

「Predictive significance of promoter DNA methylation of
Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1) in metachronous gastric
cancer」

(*Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1)*プロモーターDNAメチル化に
よる異時性胃癌の予測)

指 導 教 授 承 認 印

田中 陽



Predictive significance of promoter DNA methylation of

Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1) in metachronous gastric cancer

(*Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1)* プロモーターDNA メチル化による異時性胃癌の予測)

氏 名 久保田 陽

(以下要旨本文)

【背景・目的】

内視鏡的粘膜下層剥離術 (Endoscopic Submucosal Dissection: ESD) の開発と普及に伴い、ESD は早期胃癌 (Early Gastric Cancer: EGC) における治療の第一選択となっている。一方 ESD が普及したことで、ESD 後に異時性胃癌 (Metachronous Gastric Cancer: MGC) が 4.0% ~13.0% で発生することが報告されている。そのため現在 ESD 後の MGC を早期発見するために 1 回/年の上部消化管内視鏡検査が推奨されている。

胃癌の発生には様々な遺伝子異常が関与しており、特に発癌に関連する遺伝子プロモーター DNA メチル化は、癌特異的なバイオマーカーとして注目されている。その中でも *Cysteine dioxygenase type 1 (CDO1)* は新たな癌抑制遺伝子であり、様々な癌において *CDO1* プロモーター DNA メチル化と予後の関連性が報告されている。しかし ESD 後の MGC の発生と *CDO1* プロモーター DNA メチル化との関連性の報告はない。以上のような背景から、ESD 後の瘢痕上に発生した MGC 標本を用いて、*CDO1* プロモーター DNA メチル化と MGC 発生の関連性に関して検討した。

【対象】

北里大学病院および北里大学東病院で EGC に対して ESD を受けた患者のうち、ESD 後 3 年以上異時多発病変を認めなかった 33 症例 (non-MGC : nMGC 群) と ESD 後の瘢痕上に MGC が発生した 11 症例 (MGC on scars after curative ESD : MGCSE 群) を対象とした。さらに MGCSE 群のうち、初回 ESD (MGCSE-1 群) と、初回 ESD 後の瘢痕上に発生した MGC に対する 2 回目の ESD (MGCSE-2 群) についても検討した。

【方法】

ヘマトキシリン・エオジン染色で病理診断された EGC 標本を用いて腫瘍粘膜 (Tumor: T) と非腫瘍粘膜 (Tumor-Adjacent noncancerous Mucosa: TAM) を同定し、ホルマリン固定パラフ

イン包埋標本を 10 μ m の厚さで 20 枚程度に薄切した後、薄切切片から T および 4 点の TAM (oral TAM、anal TAM、right TAM、left TAM) の DNA を抽出した。抽出した DNA に対してバイサルファイト処理を行い、定量的メチル化特異的ポリメラーゼ連鎖反応 (quantitative methylation-specific polymerase chain reaction: Q-MSP) で増幅した。Q-MSP で得られた *CDO1* プロモーターDNA メチル化値を TaqMeth V と表記した。

肝細胞癌細胞株の HepG2 をポジティブコントロールに、大腸癌細胞株の DLD1 をネガティブコントロールとして用いた。

【結果】

臨床病理学的特徴

EGC 患者 44 症例 (nMGC 群: 33 症例、MGCSE-1 群: 11 症例) の年齢中央値は 73 歳 (58-85 歳) ($p=0.4319$) で性別に関して男性: 32 名、女性: 12 名であった ($p=0.4569$)。ESD 治療時の *H.pylori* に関して、全ての患者が現感染あるいは既感染であった (現感染: 16 症例、除菌後: 28 症例) ($p=1.0000$)。背景胃粘膜は全ての患者において萎縮性胃粘膜であった ($p=1.0000$)。組織型は高分化型腺癌: 39 症例、中分化型腺癌: 5 症例であり有意差は認めなかった ($p=1.0000$)。上記より nMGC 群と MGCSE-1 群において臨床病理学的特徴に有意差を認めなかった。

CDO1 プロモーターDNA メチル化定量値 (TaqMeth V)

nMGC 群

nMGC 群に関して、*CDO1* TaqMeth V は T (中央値: 26.0) が TAM (中央値: 18.3) と比較すると有意に高い結果となった ($p=0.0006$)。また T と 4 点の TAM (oral TAM、anal TAM、right TAM、left TAM) をそれぞれ比較したところ、全て有意差を認めた ($p=0.0111$ 、 $p=0.0451$ 、 $p=0.0201$ 、 $p=0.0220$)。

MGCSE-1 群

MGCSE-1 群に関して、*CDO1* TaqMeth V は T (中央値: 40.1) と TAM (中央値: 33.2) の間に有意差は認めなかった ($p=0.3914$)。さらに T と 4 点の TAM (oral TAM、anal TAM、right TAM、left TAM) をそれぞれ比較したところ、全て有意差を認めなかった ($p=0.3606$ 、 $p=0.9999$ 、 $p=0.2535$ 、 $p=0.5242$)。

MGCSE-2 群

MGCSE-2 群に関して、*CDO1* TaqMeth V は T (中央値: 24.0) と TAM (中央値: 24.1) の間に有意差は認めなかった ($p=0.5677$)。さらに T と 4 点の TAM (oral TAM、anal TAM、right TAM、left TAM) をそれぞれ比較したところ、全て有意差を認めなかった ($p=0.8779$ 、 $p=0.3751$ 、 $p=0.1948$ 、 $p=0.8386$)。

全ての群 (nMGC 群、MGCSE-1 群、MGCSE-2 群) において、T と TAM の *CDO1* TaqMeth V をそれぞれ解析した。

T の *CDO1* TaqMeth V に関して、nMGC 群 (中央値: 26.0)、MGCSE-1 群 (中央値: 40.1)、MGCSE-2 群 (中央値: 24.0) の間に有意差を認めなかった ($p=0.1096$ 、 $p=0.6180$ 、 $p=0.6314$)。

TAM の *CDO1*TaqMeth V に関して、nMGC 群(中央値: 18.3)、MGCSE-1 群(中央値: 33.2)、MGCSE-2 群 (中央値: 24.1) であり、MGCSE-1 群は nMGC 群及び MGCSE-2 群と比較して有意に高い結果となった ($p<0.0001$ 、 $p=0.0041$)。一方 nMGC 群と MGCSE-2 群との間には有意差を認めなかった ($p=0.0560$)。

さらに重要なことに、全ての群の T と MGCSE-1 群の TAM との間には、有意差を認めなかった ($p=0.3638$)。

*CDO1*TaqMeth V を用いた MGC の発生予測

MGCSE-1 群、nMGC 群に関して、それぞれ 4 点の TAM のうち最も高い TAM の TaqMeth V を用いて ROC 解析したところ、カットオフを 43.4 に設定することで効果的に MGC を予測することが可能であった (AUC: 0.81、 $p<0.0001$; 感度: 81.8%、特異度: 78.8)。

【結論】

本研究により、MGC が発生する部位は既に腫瘍相当の *CDO1* プロモーターDNA メチル化が生じていることが明らかとなった。その結果 *CDO1* プロモーターDNA メチル化は、MGC の発生に関与しており、MGC 発生を予測するための重要なバイオマーカーとなる可能性が示唆された。