

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

田村 知大

主論文の題目  
および

掲載・審査委員名

題目 大腸 Sessile serrated adenoma/polyp における Bcl-2 ファミリータンパク質の発現低下と DNA メチル化との関連

掲載誌 聖マリアンナ医科大学雑誌 2014 ; 4 (in press)

主査 朴 成和

副査 太田 智彦

副査 山本 博幸

[論文の要旨・価値] Sessile Serrated Adenoma/Polyp(以下 SSA/P)は過形成性ポリープと腺腫の間の特徴を示し、大腸癌の発癌過程でこれまでいわれてきた adenoma carcinoma sequence とは別に、“serrated-polyp pathway”が提唱されている。SSA/P では高頻度な BRAF 遺伝子変異や DNA のメチル化が報告されているが、これまで著者らは SSA/P において細胞増殖の増加と Bcl-2 ファミリー蛋白の発現低下によるアポトーシス抑制を報告してきた。本研究では、Bcl-2 ファミリー蛋白の発現低下の機序を解明するために、2006 年 4 月から 2013 年 3 月までに当院にて内視鏡切除された SSA/P 85 例(対照：正常粘膜 24 例)における Bcl-2, Bax, Bim, Bad 遺伝子のプロモーター領域のメチル化とこれらのタンパク質の発現との関連性を検討した。タンパク質の発現は tissue microarray を用いた免疫染色にて(-)～(3+)に分類した。免疫染色では、正常粘膜に比して SSA/P では Bcl-2, Bax, Bim, Bad (-)または(1+)の低発現の頻度が低下していた(p<0.01)。正常粘膜で(3+)の 5 例と SSA/P で(-)または(1+)25 例において CpG island 特異的な primer を用いてパイロシークエンス解析を行ったが、これら 4 種類の Bcl-2 ファミリーのプロモーター領域に明らかな DNA のメチル化は認められなかった。本研究により、アポトーシス促進性の Bax, Bim, Bad の発現低下は SSA/P の病態への関与が再確認されたが、その機序として DNA のメチル化の関与を示すことができなかった。また、予備実験では同様にアポトーシス抑制性の Bcl-X の発現が亢進しており、アポトーシス抑制性の Bcl-2 低下を代償していると考えられた。本研究により SSA/P の病態について重要な知見が得られ、今後の研究の方向性を示す意味において、意義があると考えられる。

[審査概要]主査 1 名、副査 2 名と若干名の陪席者のもと、Power Pint スライドを用いて約 20 分の発表後、30 分質疑応答があった。疾患分類や大腸癌発生に関わる研究背景、本研究の目的、結果、考察について要点をまとめ適確に発表された。①SSA/P の WHO 分類や病理学的鑑別点、②tissue microarray を用いた理由、③免疫染色の判定規準、④Positive Control の設定、⑤メチル化率の算定方法、特に⑥4 因子が同じ機序で制御されていないのではないかなどの結果が Negative であった理由、さらには⑦今後の研究の方向性などについての質問に対しても、現在進行中の実験などの結果を追加して真摯な態度で概ね適切に回答できた。審査員からの今後の研究や考え方への提言に対しても十分な理解を示し受け入れていた。引用文献の Abstract も概ね円滑に和訳でき、語学力が確認された。

## (最終) 試験結果の要旨

### [研究能力・学識等]

#### 1) 専門的知識

研究の背景、明らかにすべき問題点などが整理されており、関連する質問にも適切に回答できており、十分な専門的知識が伺われた。

#### 2) 研究能力

本研究でも適切な実験方法が用いられており、残念ながら仮説を証明することはできなかったが、問題点を既に次の実験が開始されており、仮説の立証や問題点の解決など、十分な研究能力が伺われた。

#### 3) 発表能力

研究背景、仮説の立て方、研究方法、結果、考察、今後の方向性など、筋道をたてて発表することができ、質問に対しても予備スライドを用いて回答し、高い発表能力が伺われた。

#### 4) 研究意欲

今回仮説を証明することができなかったことを受けて、既に次の研究に取り組んでおり、強い研究意欲を感じることができた。

#### 5) 態度・人柄

発表、質疑応答などについて、常に真面目な態度がみられ、審査員からのアドバイスを素直に受け入れるなど、真摯な態度と良好な人柄が伺われた。