

論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

路川 陽介

主論文の題目

COX-2 Gene Promoter Methylation in Patients Infected with  
 題目 *Helicobacter Pylori*(ヘリコバクターピロリ菌感染患者における  
 COX-2 遺伝子プロモーターのメチル化)

および

掲載誌 Clinical Medicine Insights:Gastroenterology 2013; 6: 13-19

掲載・審査委員名

主査 鈴木 直

副査 松本 直樹

副査 月川 賢

[論文の要旨・価値]

胃粘膜防御機構に重要な役割を有するシクロオキシゲナーゼ (Cyclooxygenase:COX) の中で、COX-1 は健常時の胃粘膜防御に、COX-2 は炎症や刺激によりその発現が誘導され粘膜治癒に関与していると考えられている。また、COX-2 遺伝子プロモーター領域には CpG island が存在していることから、その発現はエピジェネティックな制御を受ける可能性が示唆されている。そこで申請者らは、*Helicobacter pylori* (HP) 感染患者における COX-2 遺伝子プロモーターのメチル化の有無を解析し、病態への関与について検討した。スクリーニング胃内視鏡症例、胃十二指腸潰瘍症例、HP 除菌例において (計 114 例)、胃前庭部胃粘膜を採取し DNA 抽出した後、バイサルファイト・パイロシークエンス法で DNA メチル化を定量的に解析した。一方 in vitro での検討は、中～高度な COX-2 DNA メチル化が報告されているヒト胃癌細胞株 Kato III 細胞と AGS 細胞を用いて、COX-2 mRNA 発現とメチル化との関連を検討した。なお COX-2 mRNA 発現誘導剤ならびに脱メチル化剤として  $\alpha$ -phorbol 12,13-dibutyrate と 5-Aza-dC を用い、COX-2 mRNA の発現をリアルタイム RT-PCR 法で検討した。以上の結果、ヒト胃粘膜における HP 感染による COX-2 DNA のメチル化が確認され、一方 HP 除菌後の患者では COX-2 DNA メチル化レベルの低下が確認された。なお、NSAIDs 使用中の HP 陽性胃潰瘍患者における COX-2 DNA メチル化レベルは、非 NSAIDs 潰瘍患者と比較して有意差はみられなかった。in vitro の検討では、COX-2 mRNA の発現は脱メチル化剤及び PKC 刺激剤により相加的に発現が亢進したことから、転写調節とエピジェネティックな機序を介して制御されていると考えられた。本研究は、HP 感染者では COX-2 DNA のメチル化により胃粘膜障害時に COX-2 mRNA が発現されないことから胃粘膜の修復不全が惹起され、潰瘍発症につながる可能性を明らかにし、COX-2 遺伝子プロモーターのメチル化の潰瘍発生の関与について示した初めての論文であり、医学的に価値が高いと思われた。

[審査概要]

審査は数名の陪席者のもと、主査及び副査 2 名によって行われた。申請者から PC プロジェクターを用いて約 20 分の発表後、研究内容及び関連領域に関する約 40 分間の質疑応答と約 10 分間の英語検定が行われた。1) 胃内溶液ではなく生検検体を用いた検討であったことに関して、また胃炎の実際の診断法について、2) 潰瘍と胃炎症例間において差が認められなかったことに関する理由、3) NSAIDs あり、無しの群における差に関して、4) PCR 施行時のポジティブコントロールに関して、5) 検体の大きさや取り扱いに関して、6) COX-2 DNA メチル化における HP 感染の質的量的な違いの有無等々、多くの質疑があったが、申請者は真摯な態度で概ね適切な回答で対応していた。なお、本研究では HP 感染群の除菌後のデータが試験デザイン上検討されていなかったが、一方本研究で考察された HP 除菌例のデータとの比較に関するデータの解釈に関して、試験デザインに関する議論に最も多くの時間が費やされたが、申請者は的確に回答した。英語読解力については、参考文献の一部を和訳することで評価し、一部不十分な部分もあったが、読解力はあると評価した。以上より、申請者は十分な専門知識と研究遂行能力を持ち、その人柄を含め、学位授与に値する人物であると判断した。

## (最終) 試験結果の要旨

### [研究能力・学識等]

#### 1) 専門的知識

発表内容はほぼ正確であった。また、当該研究の関連領域についての質問には概ね適切な答えが述べられた。以上のことから、専門的知識を有すると判断した。

#### 2) 研究能力

研究遂行にあたっての知識と経験は十分あり、独立した研究者としての能力を十分に有すると判断された。

#### 3) 発表能力

よくデザインされた PowerPoint プレゼンテーションを作成して、分かりやすく的確な発表を行い、十分な発表能力があると判断された。

#### 4) 研究意欲

本研究における問題点、その解決方法、本研究の発展させる方向を具体的に理解し、今後、これらを解明していくという発言等から、研究意欲はあると判断した。

#### 5) 態度・人柄

発表と質疑において真摯な態度で臨み、誠実さを感じとることができた。従って、態度だけでなく、人柄も問題ないと思われる。