

## 論文審査の要旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

吉田 良仁

主論文の題目  
および  
掲載・審査委員名

主論文の題目：  
Detection of DNA Methylation of Gastric Juice-Derived Exosomes in Gastric Cancer  
(胃癌における胃液由来エクソソームのDNAメチル化の検出)

掲載誌 Integrative Molecular Medicine 2014;1:17-21.

主査 遊道 和雄

副査 岡本 一起

副査 山野 嘉久

### [論文の要旨・価値]

胃癌は、癌部位別死因の第2位であり、生検を必要としない低侵襲性の胃癌早期診断マーカーは重要な臨床的意義を有し、その開発が望まれている。そこで申請者らは、胃癌診断マーカー開発のためエクソソームに注目し、研究を計画した。エクソソームは生体内の様々な細胞や癌細胞から分泌される40~100nmの分泌型膜小胞で、血液、尿、唾液、腹水等の体液に存在している。申請者らは、エクソソームが胃液のような酸性環境でも安定していることに着目し、胃癌診断マーカーの開発研究における検体候補と位置づけ、胃液からエクソソームDNAを抽出できるか検討した。さらに、DNAメチル化のマーカーであるLINE-1およびSOX17遺伝子のメチル化を解析した。本研究では、9種の胃癌細胞株と20症例の胃癌患者の胃液を対象とし、胃癌細胞株培養上清および胃癌患者の胃液から、エクソソーム抽出して解析を行なった。エクソソームの確認は、電子顕微鏡およびエクソソームマーカーである抗CD9抗体を用いたウェスタンブロットにより解析した。エクソソームおよび胃癌パラフィン切片からのDNAを抽出し、パイロシーケンスによりDNAメチル化解析を行なった。研究は、本学生命倫理委員会（承認2470号（遺118））の承認を得たものである。

実験結果から、胃癌細胞株培養上清および胃液からエクソソームDNAを抽出し得ること、かつ、同DNAを用いたDNAメチル化マーカー（LINE-1, SOX17遺伝子）の定量解析が可能であることが初めて明らかとなった。また、胃液から抽出したエクソソームDNAと、同一症例の胃癌組織パラフィン切片から抽出したDNAを用いたLINE-1およびSOX17遺伝子のメチル化解析結果は高い相関を示すことも明らかにした。申請者らは、胃癌組織のSOX17遺伝子DNAメチル化は20症例中16症例（早期胃癌では10症例中8症例）にみられることを確認したことから、前述の「胃液由来エクソソーム」と「胃癌組織」のDNAメチル化解析の相関関係の知見を基に、胃癌組織を用いずに、胃液のエクソソームを用いるSOX17遺伝子DNAメチル化解析によって、早期胃癌を診断しうる臨床的意義について考察している。本研究は、胃癌早期診断マーカー開発に資する重要な知見を提供したもので、学位論文に値すると評価した。

**[審査概要]** 学位審査は、平成27年1月15日に主査副査および数名の陪席者を伴って、申請者による約30分間のプレゼンテーションの後、審査員から研究目的、臨床的意義、実験方法上の問題点、研究データの解釈、考察の妥当性および今後の展望についての約25分間の質疑応答により行なわれた。申請者はこれらの質問に懇切丁寧に明確に回答し、研究分野及び周辺領域について深い知識を持ち、さらに専門性を広げていきたいという意欲が感じられた。英文読解力は、指定した英文文献の和訳によって評価したところ、十分な能力があると判断した。以上より、学位授与に値すると判定した。

## 最終試験結果の要旨

**[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価]** 研究遂行能力は十分あり、当該研究領域の今後の課題の検討、さらには将来展望についても明確な考えを示すことができ、高い研究能力、専門知識と語学力を十分に有するものと判断した。