

Title	Hypermethylation of the Human Glutathione S-Transferase- π Gene (GSTP1) CpG Island Is Present in a Subset of Proliferative Inflammatory Atrophy Lesions but Not in Normal or Hyperplastic Epithelium of the Prostate A Detailed Study Using Laser-Capture Microd
Author(s)	中山, 雅志
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45258
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	なか やま まさ し 中山 雅 志
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 18530 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	Hypermethylation of the Human Glutathione S-Transferase- π Gene (<i>GSTP1</i>) CpG Island Is Present in a Subset of Proliferative Inflammatory Atrophy Lesions but Not in Normal or Hyperplastic Epithelium of the Prostate <i>A Detailed Study Using Laser-Capture Microdissection</i> (ヒト Glutathione S-Transferase- π 遺伝子 (<i>GSTP1</i>) の CpG Island におけるメチル化は前立腺の Proliferative Inflammatory Atrophy の一部に認められたが、正常や過形成上皮には認められなかった。Laser-Capture Microdissection を用いた詳細な検討)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

〔目的〕前立腺の限局性萎縮病変と癌との関連は半世紀以上前より提起されていたが、結論を得るに至っていない。近年、この限局性萎縮病変が hyperproliferative であり、またほとんどの場合周囲に慢性炎症所見を伴うことが指摘され、癌との関係が再注目されている。この限局性萎縮病変は proliferative inflammatory atrophy (PIA) と名付けられた。

Glutathione S-Transferase- π (*GSTP1*) は炎症や食事などの環境因子により生じる酸化ストレスから DNA のダメージを防ぐ働きをされると考えられている。前立腺癌やその前駆病変である high-grade prostatic intraepithelial neoplasia (high-grade PIN) では、*GSTP1* 遺伝子プロモーター領域の CpG island の hypermethylation により、*GSTP1* の発現が抑制されていることが示されている。諸家の報告によると high-grade PIN の約 70%、前立腺癌の 90%以上に *GSTP1* 遺伝子の hypermethylation が認められる。

PIA 病変は *GSTP1*、glutathione S-transferase- α (*GSTA1*)、および cyclooxygenase- II を高発現しており、強い酸化ストレスに曝されていると考えられる。しかしながら、すべての PIA 細胞が *GSTP1* を高発現しているわけではなく、一部の PIA 細胞には *GSTP1* の発現は認められない。そこで、我々はもし *GSTP1* の hypermethylation がこれらの *GSTP1* を発現していない PIA 細胞で起こっているならば、hypermethylation の生じた PIA 細胞は *GSTP1* を発現することができず、酸化ストレスにより更なる遺伝子変化を生じ、high-grade PIN や前立腺癌に進展すると仮説をたてた。

この仮説を証明するために、PIA 細胞における *GSTP1* 遺伝子の hypermethylation を詳細に検討した。

〔方法〕臨的に限局性と考えられ、根治的前立腺全摘術を施行された 27 例のホルマリン固定パラフィン包埋前立

腺標本より正常上皮 (n=48)、前立腺肥大上皮 (n=22)、PIA (n=64)、high-grade PIN (n=32)、前立腺癌 (n=33) の合計 200 病変を laser-capture microdissection を用いて採取した。抽出した DNA を real time PCR にて定量し、約 10 ng の DNA を用いて methylation の解析を行った。GSTP1 遺伝子の CpG island の hypermethylation は methylation-specific PCR 法により評価した。その際、2 種類のプライマーを用いて、CpG island の 2 領域の hypermethylation を同定した。

〔結果〕 GSTP1 遺伝子の CpG island の hypermethylation は正常上皮や前立腺肥大上皮では認められなかったが、PIA の 64 病変中 4 病変 (6.3%) に認められた。GSTP1 遺伝子の hypermethylation に関して正常上皮、前立腺肥大上皮と PIA の間に統計学的有意差を認めた。High-grade PIN の 68.8%、前立腺癌の 90.9% に hypermethylation が同定され、この結果は laser-capture microdissection を用いずに行われた過去の報告とほぼ一致していた。また、2 領域の hypermethylation を同定した結果、hypermethylation を認めた病変のうち、より広範囲に methylation を有する病変の比率は PIA、high-grade PIN、癌の順で増加していた。このことは前立腺癌の発癌過程で GSTP1 遺伝子の CpG island の methylation の密度も増加していく可能性を示唆していると考えられた。

〔総括〕 正常上皮や前立腺肥大上皮と異なり、一部の PIA 病変に GSTP1 遺伝子の hypermethylation が認められた。以上の結果は PIA の一部の上皮細胞が high-grade PIN や前立腺癌に進展するという仮説を支持するものである。GSTP1 遺伝子の hypermethylation を有する PIA 病変の割合は低いものであっても、前立腺における PIA 病変は高頻度にかつ広範囲に存在するため、その臨床的意義は大きいと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究は、前立腺組織における Glutathione S-transferase- π (GSTP1) 遺伝子のプロモーター領域の CpG island のメチル化を検討することで、proliferative inflammatory atrophy (PIA) と名付けられた炎症所見を伴う限局性萎縮病変が前立腺癌の前癌病変である可能性を示したものである。

GSTP1 は酸化ストレスに対する解毒酵素であり、前立腺癌においてはプロモーター領域のメチル化により発現が抑制されていることがすでに示されている。laser-capture microdissection を用いた詳細な検討により、GSTP1 遺伝子のメチル化は正常前立腺上皮や前立腺肥大上皮では認められないが、一部の PIA 病変で認められることがはじめて明らかになった。

この結果は、PIA という病変が前立腺癌の新たな前駆病変である可能性を示しただけでなく、いまだ証明されていない前立腺癌と慢性炎症との関連を示唆するひとつの分子生物学的証拠であり、学位の授与に値すると考えられる。