

01 口演（一般）

医療安全 手術

座長：間 黒男（ポソ骨医科大学外科）

司会：ピノコ

01-1) 結腸直腸癌または膨大部周囲癌の患者の血清における遊離循環DNAの完全性の増加：ALUリピートの直接定量PCR

高山 瑠衣^{1) 2)}，野中 創¹⁾，大坪 汎平¹⁾，若松 友洋¹⁾，向井 昭夫¹⁾，栗山 清十郎^{1) 3)}，植木 佳歩^{1) 3)}

ゴールドンベリー研究所¹⁾，ココナッツ研究所²⁾，さくらんぼ研究所³⁾

01-2) 12q23でのAPAF-1遺伝子座の対立遺伝子の不均衡は、結腸直腸癌の進行に関連しています

新垣 一路¹⁾，島本 卓也²⁾，広川 紗羅²⁾，益子 圭一³⁾

あけび研究会¹⁾，アサイー研究所²⁾，アボカド研究所³⁾

01-1) 結腸直腸癌または膨大部周囲癌の患者の血清における遊離循環DNAの完全性の増加：ALUリピートの直接定量PCR

高山 瑠衣^{1) 2)}、野中 創¹⁾、大坪 汎平¹⁾、若松 友洋¹⁾、向井 昭夫¹⁾、栗山 清一郎^{1) 3)}、植木 佳歩^{1) 3)}
ゴールデンベリー研究所¹⁾、ココナッツ研究所²⁾、さくらんぼ研究所³⁾

バックグラウンド：

血液中を循環する無細胞DNAは、悪性腫瘍のバイオマーカー候補です。アポトーシスを起こした非罹患細胞から放出される均一に切断されたDNAとは異なり、死んだ癌細胞から放出されるDNAはサイズが異なります。結腸直腸癌（CRC）または膨大部周囲癌（PAC）の患者の潜在的なバイオマーカーとして、血清中の長いDNA断片と短いDNA断片の比率（DNAの完全性）を測定する新しい方法を開発しました。

方法：

CRCの32人の患者（3人のステージI、14人のステージII、6人のステージIII、および9人のステージIVの患者）、19人のPACの患者（2人のステージI、9人のステージII、1人のステージIII、および7人のステージIVの患者）からの血清、そして51人の健康なボランティアは、異なる長さのDNAを増幅する2セットのプライマー（115および247 bp）を用いたALUリピートの定量的リアルタイムPCR（ALU-qPCR）によって評価されました。DNA精製なしでALU-qPCRのテンプレートとして血清を直接使用しました。DNAの完全性は、115bpALUに対する247bpALUのqPCR結果の比率として決定されました。

結果：

ALU-qPCRの検出限界は0.01pgのDNAでした。DNA精製を排除することで、技術的なアーティファクトと試薬/人件費が削減されました。血清DNAの完全性は、ステージI/IIおよびIII/IV CRCおよびステージI/IIおよびIII/IV PACで有意に増加しました（それぞれ、 $P = 0.002$ 、 $P = 0.006$ 、 $P = 0.022$ 、および $P < 0.0001$ ）。CRCおよびPACを検出するためのROC曲線には、それぞれ0.78および0.80の曲線の下領域がありました。

結論：

ダイレクトALU-qPCRは、血清DNAの完全性を測定するための、堅牢で高感度、高スループットの方法です。DNAの完全性は、CRCおよびPACの検出と評価のための潜在的な血清バイオマーカーです。

01-2) 12q23でのAPAF-1遺伝子座の対立遺伝子の不均衡は、結腸直腸癌の進行に関連しています

新垣 一路¹⁾、島本 卓也²⁾、広川 紗羅²⁾、益子 圭一³⁾

あけび研究会¹⁾、アサイー研究所²⁾、アボカド研究所³⁾

染色体遺伝子座12q23に位置するAPAF-1遺伝子は、p53の下流のミトコンドリアアポトーシス経路の重要な因子であり、潜在的な腫瘍抑制遺伝子です。対立遺伝子の不均衡（AI）によるAPAF-1遺伝子の機能不全は、結腸直腸癌（CRC）の発症と進行に寄与すると仮定しました。APAF-1遺伝子座でのAIとCRCおよび腺腫のマイクロサテライト不安定性（MIN）は、複数のマイクロサテライトマーカーによって評価されました。AIの頻度は、腫瘍の進行とともに大幅に増加しました。33例中0例

（0%）の腺腫、49例中14例（29%）の原発性CRC、および34例中18例（53%）の肝転移にAIが認められた。合計12の転移が対応する一次CRCと一致した。12組中11組（92%）で、転移は対応する原発腫瘍と同じAI状態でした。APAF-1 mRNA転写レベルは、肝転移におけるAIによって有意に減少しました（ $P = 0.009$ ）。プロモーターの高メチル化は、メチル化特異的PCRによって35（9%）の一次CRCのうちの3つと15（7%）の肝転移のうちの1つで発見されましたが、AIとは相関していませんでした。MINは49の11（23%）の一次CRCで観察され、好ましい予後因子でした。我々の結果は、AIによって引き起こされるAPAF-1遺伝子ハプロ不全が腫瘍の進行とともに増加し、肝転移に関連していることを示唆している。

02 口演（一般）

医療安全 検査

座長：ピノコ

02-1) phi29DNAポリメラーゼを用いたネストされた全ゲノム増幅によるユニバーサル非メチル化コントロールDNAの合成

浅見 百花¹⁾, 鳥居 桃香¹⁾, 鈴木 眞子¹⁾, 荒井 柚月²⁾, 新倉 葵衣²⁾
柿研究所¹⁾, かぼす研究所²⁾

02-2) 血清中の遊離循環DNAの完全性による乳房腫瘍の進行の予測

益子 圭一¹⁾, 高嶋 敏¹⁾, 小西 幸司²⁾
アボカド研究所¹⁾, あんず研究所²⁾

02-1) phi29DNAポリメラーゼを用いた
ネストされた全ゲノム増幅によるユニ
バーサル非メチル化コントロールDNAの
合成

浅見 百花¹⁾, 鳥居 桃香¹⁾, 鈴木 眞子¹⁾, 荒井 柚月²⁾, 新倉 葵衣²⁾
柿研究所¹⁾, かぼす研究所²⁾

遺伝子プロモーター領域のCpGアイランド
のメチル化を検出するための高感度メソ
ッドの最適化には、適切なメチル化およ
び非メチル化コントロールDNAが必要で
す。ユニバーサルメチル化コントロール
DNAが利用可能ですが、すべてのメチル化
シトシンからメチル基を除去するための
デメチラーゼが利用できないため、ユニ
バーサル非メチル化コントロール (UUC)
DNAは作成されていません。DNAポリメ
ラーゼによって合成されたDNAにはメチル化
シトシンが含まれていないことに基づい
て、phi29 DNAポリメラーゼを使用したネ
ストされた全ゲノム増幅 (WGA) によつて
UUCDNAを作成する方法を開発しました。
UUCでのテンプレートゲノムDNAのコンタ
ミネーションは、わずか 3.1×10^{-7}
であり、メチル化特異的PCRなどのメチル
化研究に使用される高感度メソッドの検
出限界を下回りました。マイクロサテラ
イトマーカークの評価は、ネストされた
phi29 WGAでさえ、初期テンプレートとし
て非常に少量のゲノムDNAを使用して、非
常に正確で均一な増幅を達成すること
を示しました。ネストされたphi29WGAによ
って作成されたUUCDNAは、メチル化分析
に非常に役立ちます。

02-2) 血清中の遊離循環DNAの完全性
による乳房腫瘍の進行の予測

益子 圭一¹⁾, 高嶋 敏¹⁾, 小西 幸司²⁾
アボカド研究所¹⁾, あんず研究所²⁾

目的:

血清中を循環する無細胞DNAは、悪性腫瘍
の分子バイオマーカーの候補です。アポ
トーシス細胞から放出される均一に切断
されたDNAとは異なり、死んだ癌細胞から
放出されるDNAはサイズが異なります。全
DNAに対するより長い断片の比率である血
清DNAの完全性は、乳がんの進行を検出
するために臨床的に有用である可能性が
あります。

患者と方法:

51人の健康な女性と83人の原発性乳がん
の女性 (8つの米国がん合同委員会ステ
ージ0、24ステージI、27ステージII、21ス
テージIII、および3ステージIV) の血清
サンプルを術前に評価しました。血清DNA
の完全性は、ALUDNAリピートのフラグメ
ント長に依存する定量的リアルタイムポ
リメラーゼ連鎖反応によって評価されま
した。

結果:

平均血清DNAの完全性は、健康な女性より
もステージII、III、およびIVの乳がん患
者で有意に高かった (それぞれ $P =$
.005、 $P < .0001$ 、および $P = .002$)。II
期以上の進行性乳がん患者を健康な女性
と区別するための受信者動作特性 (ROC)
曲線は、曲線下面積 (AUC) が0.79

(95%CI、0.70~0.86) でした。平均血
清DNAの完全性は、浸潤癌のサイズと正の
相関があり ($r = 0.48$; $P < .0001$)、リ
ンパ管浸潤の存在下で有意に高かった

(LVI; 0.25 ± 0.02 v 0.17 ± 0.02 ;
 $P < .0001$) またはリンパ節 (LN) 転移

(0.27 ± 0.02 v 0.14 ± 0.02 ; P
 $< .0001$)。LN転移を識別するためのROC
曲線のAUCは0.81 (95%CI、0.72~0.89)
でした。多変量解析でLN転移を予測する
には、血清DNAの完全性とLVIが有意でし
た (それぞれ $P = .0002$ および P
 $< .0001$)。

結論:

血清循環DNAの完全性は、乳がんの腫瘍の
進行と局所的なLN転移を検出するための
有望な分子バイオマーカーです。

03 口演（一般） 診療の質

座長：神代 一人（西城医院）

03-1) APC、K-ras遺伝子およびマイクロサテライト不安定性に焦点を当てた潰瘍性大腸炎関連腫瘍の遺伝的変化

堀川 美央¹⁾，大高 利津子¹⁾，飯田 章平¹⁾，山村 悟¹⁾，木村 咲月^{1) 2) 3)}

パイナップル研究所¹⁾，はっさく研究所²⁾，バナナ研究所³⁾

03-2) 血漿中よりも血清中の遊離循環DNAの量が多いのは、主に分離中の汚染された外来DNAが原因ではありません

坂 敏雄¹⁾，今田 亜子²⁾，望月 真子³⁾，岡 美穂⁴⁾，細井 花恋⁵⁾

金柑研究所¹⁾，グァバ研究所²⁾，クコの実研究所³⁾，クランベリー研究所⁴⁾，グレープフルーツ研究所⁵⁾

03-1) APC、K-ras遺伝子およびマイクロサテライト不安定性に焦点を当てた潰瘍性大腸炎関連腫瘍の遺伝的変化

堀川 美央¹⁾、大高 利津子¹⁾、飯田 章平¹⁾、山村 悟¹⁾、木村 咲月^{1) 2) 3)}
パイナップル研究所¹⁾、はっさく研究所²⁾、バナナ研究所³⁾

潰瘍性大腸炎 (UC) 関連腫瘍 (UCAN) の遺伝的変化の状態は、結腸直腸癌の特定の部分に見られるマイクロサテライト不安定性 (MSI)、および腺腫様多発結腸ポリープ (APC) 遺伝子とK-ras遺伝子に焦点を当てて調査されました。、散発性結腸直腸腫瘍形成の初期段階で突然変異が発生する。当院で結腸直腸切除を受けた15人のUC患者からの31人のUCANが調査された。浸潤癌の病変は8つ、高悪性度異形成 (HGD) は15、低悪性度異形成 (LGD) は8でした。DNAは、顕微解剖法によって各腫瘍性病変および対応する非腫瘍性組織から抽出されました。9つのマイクロサテライト遺伝子座でのMSIステータス、APC遺伝子座でのヘテロ接合性消失

(LOH)、およびK-rasコドンの12点突然変異を調べました。MSIに関しては、4/31 (13%) UCAN (癌腫: 1/8 (13%)、HGD: 2/15 (13%)、LGD: 1/8 (13%)) はMSI高 (3またはより不安定な遺伝子座) および12/31 (39%) UCAN (癌腫: 3/8 (38%)、HGD: 6/15 (40%)、LGD: 3/8 (38%)) はMSIが低かった (1または2つの不安定な遺伝子座)。APC遺伝子座のLOHは、6つの有益な (ヘテロ接合) 症例からの9つのUCANでは見つかりませんでした。UCANのK-ras変異率は3/31

(9.7%) (癌腫: 2/8 (25%)、HGD: 1/15 (7%)、LGD: 0/8) でした。MSIはUCANで比較的一般的であり、UCANの腫瘍形成の初期段階に存在しますが、APC遺伝子とK-ras遺伝子の遺伝的変化の関与はわずかです。MSIはUCにおける腫瘍性リスクの増加のメカニズムの1つである可能性があり、UCANは散発性癌とは異なる発癌経路を介して発症する可能性があります。

03-2) 血漿中よりも血清中の遊離循環DNAの量が多いのは、主に分離中の汚染された外来DNAが原因ではありません

坂 敏雄¹⁾、今田 亜子²⁾、望月 真子³⁾、岡 美穂⁴⁾、細井 花恋⁵⁾
金柑研究所¹⁾、グアバ研究所²⁾、クコの実研究所³⁾、クランベリー研究所⁴⁾、グレープフルーツ研究所⁵⁾

血清および血漿から単離された循環DNAは、癌を含むさまざまな疾患において有用なバイオマーカーであることが示されています。伝えられるところによると、血清には血漿よりも多くの遊離循環DNAが含まれています。この根本的な理由は明確ではありませんが、結果の解釈と適切なリソースの使用に臨床的影響を与える可能性があるため、重要です。腫瘍患者から24対の血清および血漿サンプルを収集し、血清中のDNAの感度が0.1 pg / microLであるALUリピートのリアルタイム定量PCR (qPCR) によって自由循環DNAを定量しました。プラズマ。ALU-qPCRは血清/血漿からのDNA精製を必要としないため、DNA損失の可能性は排除されました。血清および血漿サンプルのDNA濃度は、それぞれ970 +/- 730 pg/microLおよび180 +/- 150 pg / microL (平均 +/- SD) でした。血清と血漿のペアの検体中のDNA量は、正の相関がありました (R=0.72およびP=0.0002)。血清中の総DNAの推定8.2%は無関係でした。DNAの濃度は6.1 +/- 3.5 (平均 +/- SD) であり、それを差し引いた後のペア血漿よりも血清の方が高かった。分離ステップ中に破裂した血液中の細胞からの外来DNAの寄与は、血清と血漿の違いを説明するためにわずかでした。考えられる説明は、全血からの分離中のDNAの不均等な分布でした。我々は、血清がバイオマーカーとして癌関連DNAを循環させるためのより良い検体源であることを提唱します。

P ポスター

座長：天馬 賢三（アイスラー記念病院）

P-1) 直腸S状結腸腺腫性ポリポース：ポリポースの新しい実体？症例報告
棚橋 雛，小川 達男，市村 春花，柴崎 陽日
デコポン研究所

P-2) 横行結腸で隆起性進行癌に発展した表在性鬱病初期癌
浜口 真紀子，坂 栄太郎，岸 謙治
せとか研究所

P-3) 結腸直腸組織サンプルからの損傷したDNAを最小限に抑えるために最適化された、マイクロサテライト不安定性の診断用プライマーセット
田中 遥¹⁾，野原 松男¹⁾，富山 葉菜²⁾，新倉 春夫²⁾
スウィーティー研究所¹⁾，すだち研究所²⁾

P-1) 直腸S状結腸腺腫性ポリポーシス：ポリポーシスの新しい実体？症例報告

棚橋 雛，小川 達男，市村 春花，柴崎 陽日
デコボン研究所

目的：

直腸S状結腸腺腫性ポリポーシスの患者を報告します。

方法：

57歳の男性は、直腸に粘膜下浸潤性の高分化型腺癌と、直腸とS状結腸にのみ限定された非常に異常な分布を示す約100個の腺腫性ポリープを呈した。

結果：

結腸直腸疾患または関連する障害の家族歴はありませんでした。結腸外症状は見つかりませんでした。この症例は家族性大腸腺腫症の識別表現型であると考えられたため、全血の末梢サンプルからのDNAを、タンパク質切断試験と一本鎖コンフォメーション多型の組み合わせによってAPC生殖細胞変異についてスクリーニングしましたが、変異は見つかりませんでした。

結論：

この患者は、独特の分布を伴う腺腫性ポリポーシスの新しい実体を持っている可能性があります。APC変異以外の遺伝子変異が原因である可能性があります。

P-2) 横行結腸で隆起性進行癌に発展した表在性鬱病初期癌

浜口 真紀子，坂 栄太郎，岸 謙治
せとか研究所

70歳の男性を対象とした大腸内視鏡検査で、横行結腸に直径約2cmの非ポリープ状の表在性陥凹早期癌が認められた。病変は切除されず、切除不能な肝細胞癌

(HCC) が併存しているために観察された。15ヶ月後、追跡検査により、同じ部位に直径約6cmのポリープ状の隆起性進行癌が明らかになった。経動脈塞栓術によりHCCの完全奏効が誘導されたため、結腸癌を手術により切除した。結腸直腸癌は実質的な形態学的変化なしに発症するという不明確な概念があり、隆起型進行癌に発達した表在性陥凹癌は報告されていない。ここで報告された症例は、いくつかのポリープ状癌が表在性の陥凹した前駆体から生じるという証拠を提供します。2つの想定される結腸直腸発がん経路、「腺腫-がんシーケンス」と呼ばれる従来のポリープ状経路、およびいわゆる「デノボ」発がんを含む非ポリープ状経路の間には、いくらかの混合があります。

P-3) 結腸直腸組織サンプルからの損傷したDNAを最小限に抑えるために最適化された、マイクロサテライト不安定性の診断用プライマーセット

田中 遥¹⁾, 野原 松男¹⁾, 富山 葉菜²⁾, 新倉 春夫²⁾

スウィーター研究所¹⁾, すだち研究所²⁾

バックグラウンド:

顕微解剖法によってホルマリン固定されたパラフィン包埋組織から抽出された、最小量の高度に損傷したDNAからのマイクロサテライト不安定性の診断は困難です。したがって、最適化されたプライマーセットは、文書化されたものの代わりに新たに設計されました。

方法:

DNAは15のアーカイブ結腸直腸癌から抽出され、ポリメラーゼ連鎖反応のテンプレートとして使用されました。結腸直腸癌におけるマイクロサテライト不安定性の診断のために、9つの標準的なマイクロサテライトマーカー (BAT-25、BAT-26、BAT-40、D18S69、D2S123、D5S346、D10S197、D17S250、およびD18S58) が選択されました。プライマーセットのすべてのポリメラーゼ連鎖反応条件は、実験時間を節約するために統一されました。

結果:

文献に記載されている後者の5つのマーカーのプライマーセットは、損傷したDNAの効率が低いため、再設計されました。その結果、すべてのマーカーで十分に増幅されたDNAサンプルの数は、0%から93%に向上しました。

結論:

結腸直腸組織サンプルからの損傷したDNAの最小量に最適化された、マイクロサテライト不安定性の診断用プライマーセットが確立されました。

SY1 シンポジウム

患者の権利

座長：本間丈太郎（東亜大学外科）

SY1-1) 非ポリープ状結腸直腸腫瘍形成におけるAPCおよびK-ras突然変異の関与
吉井 棟上¹⁾，竹内 一華¹⁾，結城 俊彦²⁾，砂川 音々²⁾
夏みかん研究所¹⁾，ネクタリン研究所²⁾

SY1-2) 結腸直腸悪性形質転換中のp16およびRasアソシエーションドメインファミリータンパク質1aのメチル化
松島 彩希，白井 正好，近藤 慎一郎
いちご研究所

SY1-1) 非ポリープ状結腸直腸腫瘍形成におけるAPCおよびK-ras突然変異の関与

吉井 棟上¹⁾, 竹内 一華¹⁾, 結城 俊彦²⁾, 砂川 音々²⁾

夏みかん研究所¹⁾, ネクタリン研究所²⁾

この研究の目的は、非ポリープ状結腸直腸腫瘍形成におけるAPCおよびK-ras変異の役割を明らかにすることでした。63個の腺腫（31個のポリープ状、17個の表在性隆起、15個の表在性陥凹）、66個の粘膜下浸潤癌（47個のポリープ状、19個の非ポリープ状）および34個の進行癌からのDNAを、K-rasコドン12点突然変異および突然変異におけるAPC突然変異について調べた。クラスター領域。K-ras変異：表在性陥凹腺腫の頻度はポリープ状腺腫の頻度よりも低かった（0%対31%：P = 0.018）。非ポリープ状癌の頻度はポリープ状癌の頻度よりも低く（11%対56%：P = 0.0008）、ポリープ状腺腫の頻度と比較して比較的lowかった（11%対31%）。APC変異：表在性陥凹腺腫の頻度はポリープ状腺腫の頻度よりも低く（7%対43%：P = 0.016）、ポリープ状癌の頻度は非ポリープ状癌の頻度と類似していた。ポリープ状腺腫、ポリープ状癌および進行癌はほぼ同じ頻度であった。非ポリープ状癌の発生には、従来の腺腫-癌シーケンス以外の経路が存在する可能性があります。ほとんどの非ポリープ状癌の前駆体は、新規または表在性の陥凹腺腫であると考えられています。この非ポリープ状経路では、APC変異が必要であるように見えますが、K-ras変異は必須ではありません。表在性うつ病性腺腫の発症後に、新しいAPC変異が獲得される可能性があります。

SY1-2) 結腸直腸悪性形質転換中のp16およびRasアソシエーションドメインファミリータンパク質1aのメチル化

松島 彩希, 白井 正好, 近藤 慎一郎
いちご研究所

顕微解剖によるホルマリン固定パラフィン包埋アーカイブ組織（FF-PEAT）の遺伝子メチル化の正確な評価は、組織の体積が小さく、DNAが損傷しているため、依然として困難です。さらに、メチル化特異的PCR（MSP）などのメチル化評価の方法では、精製されたDNAに亜硫酸水素ナトリウム修飾（SBM）が必要であり、これによりDNAが大幅に失われます。腫瘍細胞を分離する前にDNAをinsituで修飾するオンスライドSBMは、DNA精製ステップを排除し、遺伝子メチル化の組織学的評価を可能にします。この研究では、結腸直腸悪性形質転換中の遺伝子メチル化の蓄積を検出するために、腫瘍内腺腫成分を伴う結腸直腸癌の20FF-PEATを使用したオンスライドSBMのプロトコルと使用について説明します。脱パラフィンした組織切片を亜硫酸水素ナトリウム溶液中で60℃で8時間インキュベートし、ヘマトキシリンで染色した後、顕微解剖しました。プロテイナーゼKライセートは、その後のPCRでテンプレートとして直接使用されました。オンスライドSBMを使用すると、282bpの長さのバイサルファイトダイレクトシーケンスが可能でした。改変されたDNAの収量は平均して標準のSBMの2.6倍でした。平均変換率は97%であり、その後のMSPでは偽陽性または偽陰性の結果は観察されませんでした。悪性形質転換中のp16およびRasアソシエーションドメインファミリータンパク質1aメチル化の蓄積による腫瘍内不均一性は、単一セクション内の腺腫部分と癌を比較するMSPによって示されました。オンスライドSBMは、FF-PEATを使用したほとんどのメチル化研究に適用できます。これにより、固形腫瘍内のメチル化の不均一性の詳細な腫瘍内分析が可能になります。オンスライドSBMは、最小限の疾患と発がん性プロセスにおけるエピジェネティックなイベントのアプローチと理解を大幅に改善します。

SY2 シンポジウム QOL

座長：ドクター・キリコ（回生病院）

SY2-1) 結腸直腸癌におけるID4の後成的不活性化は、低分化および予後不良と関連しています

江原 梨乃^{1) 2)}, 菅沼 明弘²⁾, 中本 将文³⁾, 赤羽 武一⁴⁾

梅研究所¹⁾, 梅干し研究所²⁾, オリーブ研究所³⁾, オレンジ研究所⁴⁾

SY2-2) ID4遺伝子プロモーター領域の異常な高メチル化は、T1乳がんのリンパ節転移のリスクを高めます

上杉 隆

キウイ研究所

SY2-1) 結腸直腸癌におけるID4の後成的不活性化は、低分化および予後不良と相関しています

江原 梨乃^{1) 2)}, 菅沼 明弘²⁾, 中本 将文³⁾, 赤羽 武一⁴⁾
梅研究所¹⁾, 梅干し研究所²⁾, オリーブ研究所³⁾, オレンジ研究所⁴⁾

目的：
ID4遺伝子は、基本的なヘリックス-ループ-ヘリックス転写因子のDNA結合を阻害するDNA結合 (ID) ファミリータンパク質の阻害剤のメンバーです。結腸直腸癌 (CRC) 発生におけるID4遺伝子の後成的不活性化とその臨床的重要性を評価した。

実験計画：
CRC細胞株では、プロモーター領域のID4メチル化状態は、メチル化特異的PCRとバイサルファイトシーケンシングによって評価されました。 mRNA発現レベルは、定量的リアルタイム逆転写PCRによって評価されました。 9つの正常な上皮、13の腺腫、92の原発性CRC、および26の肝転移のメチル化状態は、メチル化特異的PCRによって評価されました。 ID4タンパク質の発現は、組織標本の免疫組織化学分析によって評価されました。

結果：
CRC細胞株は高メチル化されていることが示され、mRNAの発現は抑制され、5-アザシチジン処理によって回復することができました。正常な上皮、腺腫、原発性CRC、および肝転移からの臨床検体では、ID4の過剰メチル化の頻度は0/9 (0%)、0/13 (0%)、49/92 (53%)、および19/26でした。 (73%)、それぞれ、CRCの病理学的進行に応じて有意な上昇を示した。原発性CRCのメチル化状態は、組織病理学的腫瘍グレードと有意に相関していた (P = 0.028)。免疫組織化学分析は、正常な結腸上皮、腺腫、および非メチル化一次CRCのID4発現を示したが、高メチル化CRC標本は示さなかった。根治的外科的切除を受けた76人の米国癌ステージIからIVの合同委員会の中で、高メチル化ID4保有腫瘍の患者では、全体的な生存率が有意に低かった (P = 0.0066)。

結論：
ID4遺伝子は、メチル化状態がCRCの進行に重要な役割を果たす可能性のある潜在的な腫瘍抑制遺伝子です。

SY2-2) ID4遺伝子プロモーター領域の異常な高メチル化は、T1乳がんのリンパ節転移のリスクを高めます

上杉 隆
キウイ研究所

ID4遺伝子は、基本的なヘリックス-ループ-ヘリックス転写因子のDNA結合を阻害するDNA結合 (ID) ファミリーの阻害剤のメンバーです。特定のヒト原発性乳がんは、ID4タンパク質の発現が低いかまったくないことが報告されていますが、発がんおよびがんの進行におけるその役割は不明です。その可能な役割を決定するために、我々は、ヒト乳房細胞株およびT1乳癌組織におけるプロモーターの過剰メチル化によるID4遺伝子の後成的不活性化を調べた。 ID4プロモーターCpGアイランドのメチル化状態は、メチル化特異的PCR (MSP) によって評価されました。 ID4 mRNAレベルは、定量的リアルタイムRT-PCRによって評価されました。 8つの細胞株のうち、2つは完全にメチル化され、4つは部分的にメチル化され、2つはメチル化されていませんでした。 ID4 mRNAレベルは、完全にメチル化された細胞株で抑制されました。 ID4の過剰メチル化は、患者の年齢と腫瘍の直径が一致する24例中16例 (67%) のリンパ節転移陽性および36例中7例 (19%) のリンパ節転移陰性のT1原発性乳がんで観察されました。それはリンパ節転移の重大な危険因子でした (OR 13.1, P = 0.0004)。 ID4 mRNAレベルは、高メチル化癌検体で抑制されました (P = 0.014)。 ID4は腫瘍の進行に重要な抑制的役割を果たしている可能性があり、高メチル化によるサイレンシングは局所リンパ節転移のリスクを高める可能性があります。