

腺とでメチル化されているが、腸上皮化生の発生に伴い脱メチル化されること、腸上皮化生の発生に伴いこの遺伝子の異常な発現が出現すること、が示された。市販の抗体が利用可能であり、免疫組織染色を行ったところ、腸上皮化生の発生に伴い異常な発現が出現することが確認された。

bHLH 型の転写因子のイントロン2に由来する DNA 断片 B-A5 は、正常な胃底腺でメチル化され、正常な幽門腺で脱メチル化され、腸上皮化生の発生に伴い、幽門腺でもメチル化される。一方、この転写因子は、正常な胃底腺で発現し、正常な幽門腺では発現せず、幽門腺での腸上皮化生の発生に伴い、メチル化されかつ発現の上昇を認めることが判明した。

残りの3個の遺伝子については、発現の変化は認められず、メチル化の変化と発現の変化との関連は不明であった。

#### D. 考察

胃底腺と幽門腺とで、または、腸上皮化生の出現に伴い、メチル化の状態が異なると思われる DNA 断片を、MS-RDA 法により分離した。本研究では、MS-RDA 法により分離された DNA 断片の約半分で、近傍に CpG アイランドと遺伝子が存在し、その約半分で発現の変化も確認された。分離された DNA 断片のうち CpG アイランドに近接するものの割合は、同法を腫瘍の解析に用いた場合よりも、やや少なかった。しかし、発現が異なる遺伝子を同定するまでのステップは、従来のゲノムスキャン法と比較しても、十分効率よいと考えられた。

今回、発現が変化した遺伝子として、integrin 遺伝子の一つ、及び、bHLH 型の転写因子が同定された。特に、integrin 遺伝子の一つに関しては、利用可能であった抗体で、腸上皮化生特異的な発現が認められた。Integrin 分子群は、細胞間の情報伝達、細胞外基質からの情報伝達に関与することが知られ、integrin の分子種の変化が、胃上皮から腸上皮への分化の方向性の変化に関与している可能性が考えられる。腸上皮化生の結果として発現が変化しているのか、もしくは、異常な脱メチル化による異常な発現の出現が腸上皮化生の原因として関与しているのか、今後の重要な課題である。

もう一つの、bHLH 型の転写因子は、イントロン2の CpG アイランドが MS-RDA 法で分離された。基本的には、胃底腺でメチル化されていたものの、胃内の部位とメチル化のパターンとは完

全には相関せず、本遺伝子のイントロン2以外の CpG アイランドのメチル化の状態を検討中である。また、同転写因子の発現は、イントロン2の CpG アイランドがメチル化されると増加する傾向にある。イントロンの CpG アイランドがメチル化されると遺伝子発現量が上昇することは、IGF2R 等で知られており、本遺伝子でも、イントロンのメチル化が転写促進的に働いている可能性が考えられた。

以上、ポリクローナルな病態と考えられる腸上皮化生でも、メチル化の異常及びそれに伴う発現の異常を同定できたことは、極めて重要な知見と考える。ある幹細胞に由来する細胞群（胃腺管）に生じたメチル化の異常が、周囲の細胞群に伝えられるのか、もしくは、組織が慢性の傷害等を受けた場合に特定の遺伝子のメチル化の状態が変わりやすいのか、の解明は今後の課題である。その解明は、様々な疾患の原因を考える上で、また、幹細胞の分化誘導・分化制御による臓器の再生等を考える上で、重要である。

#### E. 結論

MS-RDA 法により、integrin 遺伝子の一つが、腸上皮化生の発生に伴い、異常な脱メチル化を受け、異常な発現が出現すること、bHLH 型の転写因子が、胃底腺と幽門腺とで発現が異なり、腸上皮化生の発生に伴い、幽門部でもメチル化され、発現の上昇を認めること、を見いだした。多クローナルな病態でもメチル化の異常が存在すること、即ち、異なる幹細胞に由来する細胞群でも同一のメチル化の異常が発生することが示され、今後、様々な疾患の原因や遺伝子発現異常を研究する上で、極めて重要な知見と考えられた。

#### F. 発表業績

##### 論文発表

1. Sugimura, T. and Ushijima, T. Genetic and epigenetic alterations in carcinogenesis. *Mutat. Res.*, in press.

##### 学会発表

1. 牛島俊和、浅田潔、高井大哉、吉田幸成、黒須由紀子、福富隆志、杉村隆 ヒトがんで異常なメチル化を受ける遺伝子群の MS-RDA 法による同定 第 58 回日本癌学会総会、シンポジウム、1999 年 9 月
2. 吉田幸成、稲田健一、今井浩三、立松正衛、

杉村隆、牛島俊和 胃の腸上皮化生においてメチル化の状態及び発現が変化する遺伝子の同定 第 58 回日本癌学会総会、口演、1999 年 9 月

3. Yoshida, Y., Inada, K., Imai, K., Tatematsu, M., Sugimura, T., Ushijima, T. Isolation of differentially methylated DNA fragments in intestinal metaplasia and normal gastric epithelium. ISOBM Kyoto, Japan November, 1999.
4. Asada K, Miyamoto K, Fukutomi T, Sugimura T, Ushijima T. Identification of hypermethylated and transcriptionally repressed genes in human breast cancers. AACR annual meeting, San Francisco. April, 2000.

G.知的所有権の取得状況

なし