

氏名	村岡孝幸
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博甲第 4888 号
学位授与の日付	平成26年3月25日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目	The degree of microRNA-34b/c methylation in serum-circulating DNA is associated with malignant pleural mesothelioma (血清遊離DNAにおけるmicroRNA-34b/cのメチル化の度合いは悪性胸膜中皮腫と関連する)
--------	--

論文審査委員	教授 吉野 正 教授 尾崎 敏文 准教授 金廣 有彦
--------	----------------------------

#### 学位論文内容の要旨

microRNA-34b/c (miR-34b/c) は悪性胸膜中皮腫 (MPM) の病原論に重要な役割を果たし、MPM の約 9 割で DNA のメチル化によりその発現が低下している。本研究ではメチル化特異的 PCR 法 (MSP) を用いたデジタル PCR 法によって血清遊離 DNA 中における miR-34b/c のメチル化具合を以下の方法で検討した。SYBR Green 法による real-time MSP を行い、melting curve の分析にて各 PCR 産物の melting temperature ( $T_m$ ) を求めた。各血清検体について 40 well のデジタル PCR を行うこととし、MPM48 検体、良性石綿胸水 (BAP) 21 検体、健常者 (HVs) 41 検体の合計 110 検体について検討した。 $T_m$  の陽性範囲を (陽性対照の平均値)  $\pm$  (同分散)  $\times 3$  と定義した結果 77.71–78.79°C が陽性範囲となった。陽性 well 数の比較で、MPM は BAP 並びに HVs に対して有意に陽性数が多かった ( $P=0.03, <0.001$ )。ROC 曲線による分析では感度 67%、特異度 77% で曲線下面積は 0.77 となった。本研究によって血清遊離 DNA 中の miR-34b/c のメチル化を定量することができた。miR-34b/c のメチル化具合は MPM と関連しており、MPM の新たな同定手段を確立するのに有益であると示唆される。

#### 論文審査結果の要旨

本研究は悪性胸膜中皮腫の病因に関係する microRNA-34b/c (miR-34b/c) について検討したものである。中皮腫の 9 割でメチル化があり発現が低下している。メチル化特異的 PCR (MSP) により血中遊離 DNA 中における miR-34b/c のメチル化を検討した。中皮腫例 48 検体、良性石綿胸水 21 検体、健常者 41 検体の計 110 検体を検索した。その結果、中皮腫例は良性石綿胸水、健常者に対して有意に陽性数が多かった。その感度は 67%、特異度は 77% と算定された。本研究により血中遊離 DNA 中の miR-34b/c のメチル化を用いることで、悪性胸膜中皮腫の同定手段のひとつとなりうる可能性が示唆された。

実験の目的、手法、結果とその解釈とも適切になされており、「悪性胸膜中皮腫の診断方法」に関する重要な知見を得たものと評価される。

よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。