

中文摘要：

p16 基因的過度甲基化情況在大腸直腸癌中約占 28.6%，由於過度甲基化是屬於 epigenetic 變化，其受細胞甲基化環境的影響頗大。即具過度甲基化傾向的細胞，其細胞中 mismatch repair genes 亦傾向於過度甲基化。在本研究中，我們分析 24 例具 p16 過度甲基化的大腸直腸癌，其中發現 13 例 (54.2%) 表現 microsatellite instability。再進一步以西方點墨法分析 hMSH2, hMLH1 蛋白表現，發現 12 例 hMLH1 不表現，而 hMSH2 不表現僅佔 1 例。這 12 例 hMLH1 蛋白未表現者，其中 2 例係基因本身有缺損，另外 10 例則是由於 hMLH1 基因在 promoter region 的過度甲基化。在本研究中，我們的結論是某些大腸直腸癌腫瘤細胞中，確實存在促進多重基因產生過度甲基化的環境。而台灣地區具 microsatellite instability 的大腸癌之致癌機轉，則可能大部份導源於 hMLH1 的 promoter region 的過度甲基化。

英文摘要：

Hypermethylation of p16 gene were present in 28.6% of colorectal cancers. Hypermethylation is an epigenetic change of genes, and it is influenced by the methylation environment of cells, Namely, if a colorectal cancer cell presents with p16 hypermethylation, it also tends to have hypermethylation in mismatch repair genes. In this study, we analyze 24 colorectal cancers with p16 hypermethylation. We found that 13 patients (54.2%) simultaneously presented with microsatellite instability. When these 13 colorectal cancers were subjected to Western-blot analysis, we detected that 12 patients were without the expression of hMLH1 protein and 1 patient were without the expression of hMSH2. In these 12 patients without hMLH1 expression, 10 cases were due to hypermethylation of the promoter region of hMLH1 gene and 2 cases were due to the genetic defect of hMLH1 coding regions. Based on this study, we concluded that a subset of colorectal cancers will have the methylation environment which induced hypermethylation of multiple genes. In Taiwan, most colorectal cancers with microsatellite instability were due to the hypermethylation of the promoter region of hMLH1 gene.

計劃緣由及目的：

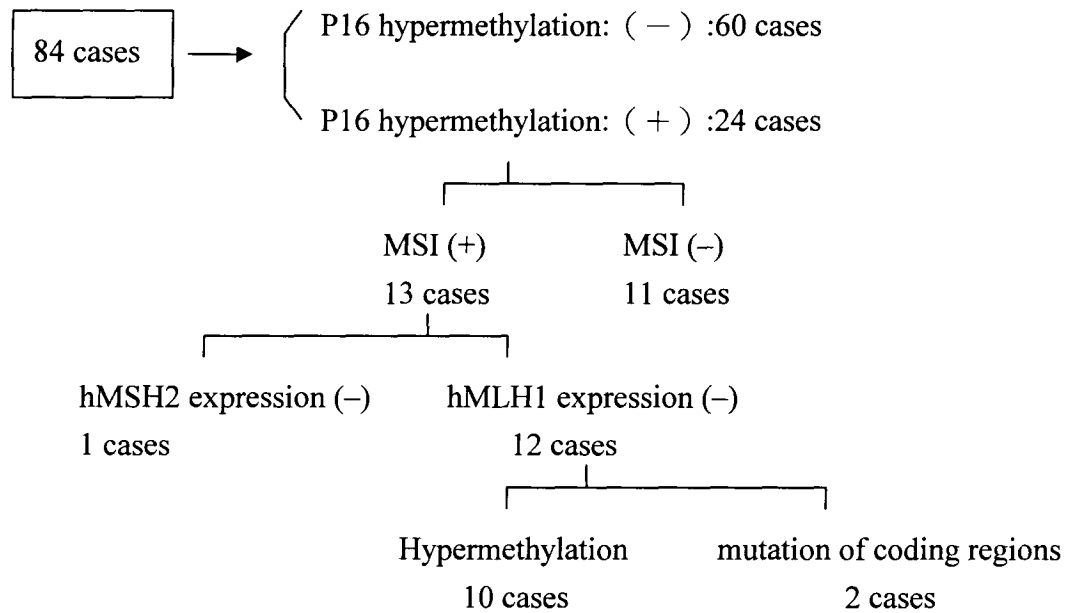
各種研究結果顯示 MSI 在致癌過程中十分重要。MSI 的產生簡單言之，是因 MMR 基因 (mismatch repair genes) 的突變造成。MMR 基因包括 hMSH2, hMLH1, hPMS1, hPMS2, hMSH6/GTBP 等。MMR 基因的功能喪失可能因基因本身突變造成，不過近年的研究亦顯示這些基因的 promoter，亦可能發生 epigenetic changes，例如過度甲基化 (hypermethylation)，因而造成 MMR 基因的 inactivation，此種狀況並不是基因結構上的問題。當 MMR 基因發生問題時，一些下游基因，特別是一些含有重複系列者，便特別容易發生突變，而造成細胞的癌化。這些基因中曾被提出者包括 TGF β R II, IGF II R, hMSH3, hMSH6, BAX, E2F4, 以及 BLM helicase gene。這些基因一旦發生 MSI 會造成 DNA 系列的 insertion 或 deletion，因而造成 frameshift mutations 和 protein truncation，從而促進腫瘤細胞的生成。本研究主要在探討 p16 基因

過度甲基化，與 mismatch repair genes 之表現的關係，在本研究中，我們將 MSI 狀態區分成 MSS, MSI-L, MSI-H; 確定 MSS, MSI-L, MSI-H 個別的臨床病理特徵；確定 hMSH₂, hMLH₁ 基因的突變狀況，並與 p16 基因的 hypermethylation 做一關聯。

計劃結果及討論：

我們分析 84 例第 II 期大腸直腸癌發現具 p16 hypermethylation 者約占 28.6%(表一)。其中並發現 p16 hypermethylation 與 MSI 有關。將 13 例具 MSI 的腫瘤分析其 mismatch repair genes，發現大部份是導因於 hMLH1 基因的過度甲基化（圖一）。從這些結果看來，某些大腸直腸癌細胞中確實存在一個過度甲基化的環境，並促使多重基因發生過度甲基化，而使得這些基因不表現因而致癌。另外，台灣地區大腸直腸癌發生率的上揚，似乎與此 epigenetic change，即環境的西化脫離不了干係。

圖一、本研究的流程及結果：



計劃成果自評：

本研究對 p16-hypermethylation 與 mismatch repair genes 的蛋白表現做一關連分析。本研究的另外特色是將具 MSI 腫瘤之 hMLH1, hMSH2 之 genetic 及 epigenetic changes 做一有系統分析，並得到 Western blot 的佐證，吾人深信此結果應該很快可在國際雜誌上發表。

參考資料：

1. Liang JT, Chang KJ, Chen JC, et al: Hypermethylation of the p16 Gene in Sporadic T3N0M0 Stage Colorectal Cancers: Association with DNA Replication Error and Shorter Survival. *Oncology* 1999;57:149-156.

表一.

	P16 hypermethylation (n=24)	Non-p16 hypermethylation	P value
Age(mean±SD)	62.5±10.2	61.8±8.0	NS
Gender			
Male	13	32	NS
Female	11	28	
Tumor location			
Proximal	14	39	NS
Distal	10	21	
Tumor size			
<5 cm	21	47	NS
≤5 cm	3	13	
Growth pattern			
Polypoid	9	27	NS
Ulcerative	15	33	
Tumor differentiation			
Good	6	17	
Moderate	16	39	NS
Poor	2	4	
Mucin production			
+	2	4	NS
-	22	56	
Vascular lymphatic invasion			
+	17	37	NS
-	7	23	
Lymphocyte infiltration			
+	12	34	NS
-	12	26	
CEA, ng/ml			
<3.5	11	37	
3.5-10	9	17	NS
>10	4	6	
K-ras mutation			
+	8	27	NS
-	16	33	
P53 overexpression			
+	14	31	NS
-	10	29	
LOH of DCC informative (n=52)			
+ (n=23)	7	16	NS
- (n=29)	7	22	
DNA replication error			
+	13	14	0.01
-	11	46	