

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 門田 幸二

---

DNA マイクロアレイは、一度に数万種類の遺伝子発現の変化を観察することができる技術であり、最近ではその応用範囲を癌の分類などの臨床応用へと広げつつある。しかしながら、誤差の蓄積に起因する再現性の問題が残されている。そこで、実験データに統計処理を適用することにより、信頼性の高いデータだけを抽出する必要がある。DNA マイクロアレイを用いて腫瘍性ポリープ（腺腫）と癌の発現プロファイルの観点からみた診断を行う場合、より悪性度の高い病態である癌を正しく癌と分類できること（感度 100%）が実際の臨床応用を目指す上で非常に重要である。また腺腫に関しては、どの程度癌の病態に近いかを評価することにより、遺伝子発現プロファイルが癌に非常に近い腺腫のハイリスク群をスクリーニングできる可能性が考えられる。そこで本研究では、DNA マイクロアレイ実験により得られる数万種類に及ぶ遺伝子の発現情報解析を行う上で有効な手法を開発することを目的とした。一つは、実験データに統計処理を適用することにより、信頼性の高いデータだけを抽出する、遺伝子発現解析を行う前段階で用いるプログラムである。もう一つは、前述の統計処理を適用して作成した遺伝子発現データを入力として、臨床サンプルの悪性度を遺伝子発現プロファイルの観点から分類して診断を行うプログラムである。

研究の背景を述べた第一章に続き、第二章においては、DNA マイクロアレイ実験より得られたデータをコンピュータ上での遺伝子発現情報解析で有効に活用するために予め行う統計処理法を提案した。本手法は、2 回行われた重複実験データを入力ファイルとして、再現性 (R) と最終的なデータ数の割合 (N) の両方を考慮した統計処理結果を出力するものである。本手法の有効性を調べるために、マウス胎児および成体の各組織からなる計 49 組織の実験データを用いて検証を行った。結果として、本手法を用いることで、統計処理前後の相関係数が平均で 0.073 上昇し、特に処理前の値が低いものほどより効果的であることが分かった。また、他の処理法との比較においても総合的に優れた結果を収めていることが明らかにされた。本研究で開発した統計処理プログラムは、理化学研究所のマイクロアレイ実験データに対して現在広く用いられており、その効果が確認されている。

続く第三章においては、多段階発癌の過程を経てその悪性度を増していくとされている

大腸腫瘍の 2 つの病態（癌と腺腫）に対して、臨床応用を目指した高精度な悪性度診断のためのシステムを開発した。本システムは、悪性度の異なる 2 つの臨床サンプル群を列方向、そして DNA チップ上に載せられた遺伝子を行方向とする遺伝子発現行列を入力として、悪性度の高い状態（癌）を特徴づける遺伝子群を抽出して出力するものである。本システムおよびその分類に対する考え方の有効性を、ヒト cDNA が 20,784 個載せられた DNA チップを用いて得られた、大腸腺腫および癌の原発巣や転移巣のサンプル計 35 例の実験データを用いて検証した。分類のための候補遺伝子の絞込みによって得られた計 335 個の遺伝子発現プロファイルを用いて分類を行った。結果として、テストセットとして評価された 12 例を含む癌サンプル 28 例を正しくそのように分類することができた。また、腺腫 3 例がハイリスク群として診断されたが、そのうち 2 例は癌化率が 50%以上と報告されている 20mm 以上の腫瘍サイズを示した。このことより、本手法が実際の臨床診断を行う上で十分に機能するものであることが示唆された。

第四章においては、以上の結果をまとめ、本研究で開発した 2 つの遺伝子発現解析手法が有用であり、実際のマイクロアレイ実験データの統計処理、および様々な腫瘍の悪性度診断に十分耐えるものであることについて論じた。また、残された課題および他の応用例についての具体的な提言などを述べた。

以上要するに本論文は、cDNA マイクロアレイ実験によって得られる大量のデータを効率的に解析する上で非常に重要な手法を開発したものであり、学術（臨床）応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。