

## 審査の結果の要旨

谷口 浩和

本研究は胃癌の臨床検体に対して GeneChip™を用いた遺伝子発現解析を行うことにより、胃癌組織および、その臨床的、分子病理学的な特徴を規定する遺伝子の同定を行い、さらに胃癌に関連する新規遺伝子の同定を行ったもので、下記の結果を得ている。

### 1. 胃癌組織および非癌部胃粘膜組織に特徴的に発現する遺伝子の同定

- a) 胃癌組織 22 検体および非癌部胃粘膜組織 8 検体から得られた約 6800 遺伝子の発現データ (GeneChip HuFL) を用いて、ピアソンの相関係数により 2 方向クラスタリングを行った。これにより胃癌組織と非癌部胃粘膜組織は遺伝子の発現量のみによって区別できることが示された。
- b) さらにこの遺伝子発現データを用いて、胃癌組織及び非癌部胃粘膜組織に特徴的に発現する遺伝子の同定を行った。Mann Whitney's U-test による検定を行い、胃癌組織と非癌部胃粘膜組織での遺伝子発現量の平均を比較することにより、胃癌組織で非癌部胃粘膜組織より 2 倍以上発現量のある 162 遺伝子、逆に非癌部胃粘膜組織で 2.5 倍以上発現量のある 129 遺伝子を同定した。さらに、それぞれを機能別の表にまとめることで、胃癌組織と非癌部胃粘膜組織で発現する遺伝子の特徴が示された。

### 2. 臨床的および分子病理学的特徴を規定する遺伝子の同定

1. 遺伝子発現データを用い、Mann Whitney's U-test による検定、および二群の平均を比較することで、次の 4 つの特徴を規定する遺伝子の同定を行った。
- a) リンパ節転移に関連して 9 遺伝子が同定された。うち 4 つはすでにリンパ節転移との関連が報告されていたものであった。あらたに関連が示されたもののうち OCT2 はリンパ球に特異的に発現する遺伝子で、OCT2 に対する免疫染色ではリンパ節転移陽性の胃癌組織の一部にのみ胃癌細胞に陽性所見が認められ、OCT2 の発現とリンパ節転移とが関連することが示唆された。
- b) 組織型 (腸型、びまん型) に関連して 15 遺伝子が同定された。腸型の胃癌では LI-cadherin 等の腸管に発現する遺伝子が、びまん型の胃癌では、胃

に固有の機能と関連する遺伝子が特徴的であり、二つの組織型は別の発癌経路をとっている可能性が示唆された。

- c) p53 の核内異常蓄積に関連して 5 遺伝子が同定された。p53 との関連が報告されている遺伝子は同定されなかったが、MMP-9 は、胃癌の浸潤転移との報告がされており、そのプロモーター領域に p53 との関連を示唆する領域 (AP-1 site) があることから、MMP-9 の発現が p53 の異常と関連する可能性が示唆された。
- d)  $\beta$ -catenin の核内蓄積に関連して 5 遺伝子が同定された。そのうち TCF7 は  $\beta$ -catenin の核内蓄積との関連が報告されている。他には、Protein phosphatase 2, regulatory subunit B (B56), delta isoform 等の増殖に関連する遺伝子が抽出されており、胃癌の発癌や進展との関連が示唆された。

### 3. 胃癌に関連する新規遺伝子の同定

1 組の胃癌臨床検体に対する約 35000 クローンの EST 発現データ (GeneChip HuGene35K) と、4 組の胃癌臨床検体に対する半定量的 RT-PCR のデータを用いて、胃癌に関連する新規の 3 遺伝子を同定した。HEYL (hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif-like) および GLIS2 (GLIS2 Kruppel-like zinc finger protein) の 2 つは、解析中に他のグループから Genebank に登録された。HEYL は Notch シグナルによって転写が亢進する転写因子、GLIS 2 は、Sonic hedgehog シグナルの転写因子 GLI のファミリー遺伝子であり、ともに発生の過程に関与することが知られている。これらの遺伝子が間質の細胞ではなく胃癌細胞に発現していることを *in situ hybridization* 等により示し、この二つの遺伝子が胃癌の発癌に関連している可能性が示された。また、残る 1 つの新規遺伝子は、EST を結合して *in silico* で同定した後に、cDNA を用いて存在を確認したマウスの Carboxypeptidase X2 のオルソログで、ヒトでは未だ報告のない新規の遺伝子であることが示された。

以上、本論文は胃癌の臨床検体を用いて比較的新しい手法を用いた広汎な遺伝子発現解析によって、胃癌組織、非癌部胃粘膜組織、リンパ節転移、組織型、p53 および  $\beta$ -catenin の核内異常蓄積に関連する遺伝子の同定、および胃癌に関連する新規遺伝子の同定を行ったものである。個々の遺伝子に関しては今後も詳細な解析を継続する必要があるが、新規の遺伝子の同定を含め、胃癌の様々な特徴に関して多くの新規の知見をもたらしたものであり、学位の授与に値すると考えられる。