

論文内容の要旨

論文題目

オリゴデンドログリオーマの遺伝子発現プロファイル解析

指導教官 桐野高明 教授

東京大学大学院医学系研究科

平成12年4月 入学

医学博士課程

脳神経医学専攻

氏名 武笠 晃丈

グリオーマは、原発性脳腫瘍の3分の1を占める主要な悪性脳腫瘍であり、その浸潤性の性質のため根治困難な場合が多い。患者の予後は、治療抵抗性や増殖速度などの腫瘍細胞の生物学的性質により基本的には決定されるが、このような予測は、おもに腫瘍の形態学的特徴に基づいた組織診断に基本をおいてきた。そしてその診断は、アストロサイト・オリゴデンドロサイトといった腫瘍の発生母地と思われる細胞に関連づけて行われている。しかしながら、組織学的診断による腫瘍の分別は必ずしも容易でなく、組織診断を補助するような、より客観的で明快な診断基準が必要と思われる。

オリゴデンドログリオーマは主要なタイプのグリオーマの一つである。近年、オリゴデンドログリオーマのサブグループ (60-80%) が化学療法 (PCV 療

法) に著明な感受性を示し予後が良いことが知られるようになった。さらに分子遺伝学的研究により、この治療反応性がオリゴデンドログリオーマの約 60-80% に認められる染色体 1p の欠損 (しばしば 染色体 19q の欠損を伴う) と高い相関を示すことが明らかになった。現在では、染色体 1p の欠損は、オリゴデンドログリオーマを生物学的性質の異なる 2 群に分けるマーカーであると認められるようになったが、この相違のもとになっている分子機構はいまだ明らかになっておらず、染色体 1p, 19q 上にあると想定される癌抑制遺伝子も未だに同定されていない。

上述のようなグリオーマにおける種々の問題を研究するため、今回の研究に主に用いたのが DNA チップである。DNA チップは多数の遺伝子を、比較的網羅的に一度に解析する方法として近年急速に普及している。またこれは、単に研究目的のみならず病理診断を補助し、新たな診断マーカーの同定にも有用であることが示されている。当研究では、その中でも特にオリゴデンドログリオーマに焦点をあて、遺伝子プロファイル解析を出発点としてその分子生物学的性質を明らかにすることを試みた。

本研究ではまず、オリゴデンドログリオーマの 1p 欠損の有無による、この腫瘍の遺伝子発現の相違を明らかにするため、高密度オリゴヌクレオチドアレイである GeneChip(Affymetrix 社) Human U95A アレイを用いて最大約 12600 種類の遺伝子発現の網羅的解析を行った。症例は、染色体 1p 欠損を認める 6 例、認めない 5 例の、合計 11 例のオリゴデンドログリオーマに、市販正常脳 RNA 2 例を加えたものを対象とした。その結果、1p の欠損の有無が異なる二つのオリゴデンドログリオーマのサブグループ間では、遺伝子発現にも統計学的に有意な差があることが示された。発現量に差がある遺伝子として 1p 欠損のある群で発現の高い 86 遺伝子、発現の低い 123 遺伝子の、合計 209 遺伝子を選びましたが、これらの遺伝子は化学療法感受性や予後の相違と何らかの関連を持つ

ものと思われる。注目すべき点として、染色体 1p の欠損を認めるオリゴデンドログリオーマで有意に発現が減少していた 123 遺伝子の多くが、染色体 1 番 (50%) あるいは 19 番 (10%) 上にあった。また、その発現量の減少を、1p 欠損を認めない腫瘍での発現量との比でみたときに、片方の染色体の欠損を反映するかの如く、約 50% (0.54 ± 0.13) であった。このような染色体 1p 上の多くの遺伝子発現量がおよそ半分になっていることが、haplo-insufficiency と呼ばれるような現象を介して腫瘍形成や生物学的性質の原因となっているかは、今後のさらなる検討が必要である。さらに技術的な観点からいうと、オリゴヌクレオチドアレイが、遺伝子発現が 2 分の 1 になったことを検出するだけの十分な定量性があることを観察しえたことは重要であろう。

次に、先に使用したオリゴデンドログリオーマと正常脳のデータに、新たにアストロサイトーマ 6 例、グリオブラストーマ 5 例の GeneChip による遺伝子発現データを追加し、Significant Analysis of Microarray (SAM) 法を用いて主要な 4 つのグリオーマサブセットそれぞれで特徴的な遺伝子の発現パターンの検出を試みた。これにより染色体 1p の欠損を認めるオリゴデンドログリオーマで発現の有意に高い 29 遺伝子が同定された。特に特徴的であった点は、染色体 1p の欠損を認めるオリゴデンドログリオーマで特異的に発現の高い遺伝子の多くは、正常脳組織でもまた高発現を示しており、神経細胞（ニューロン）に関連した機能を持つと考えられたことである。これらの遺伝子に含まれるものとしては、*MYTIL*、*INA*、*RIMS2*、*SNAP91*、*SNCB* などが挙げられる。また、この神経細胞との類似性は、各サブセットを代表する 20 遺伝子ずつの合計 80 遺伝子を使用して、様々な部位の正常脳組織の遺伝子発現と比較解析することによっても確認することが出来た。*MYTIL* 遺伝子は、正常の神経細胞に豊富に発現している遺伝子であるが、その組織学的検討を行ったところ、この遺伝子は確かにオリゴデンドログリオーマの腫瘍細胞に発現していることが分かった。

この結果は、オリゴデンドログリオーマのうち、特に染色体 1p の欠損があるものは、多少なりとも神経細胞に関連した性質を持っていることが特徴であることを示唆している。この点は、オリゴデンドログリオーマが一般的にはグリア系列の細胞に由来していると考えられ、組織学的にもグリア系列の腫瘍に分類されていることを考えても興味深く、分子学的な腫瘍の再分類に寄与しうるデータであると考えられる。さらなる病理学的な研究は不可欠であるが、このような神経細胞に関連した機能をもつ遺伝子が、予後の良いオリゴデンドログリオーマの良い診断マーカーとなることも期待された。

(まとめ) オリゴデンドログリオーマを中心としたグリオーマの遺伝子発現プロファイル解析により、癌抑制遺伝子や化学療法感受性に関連する遺伝子が存在すると考えられる染色体 1p 上で、遺伝子発現に変化のある多数の遺伝子を抽出することができた。また、染色体 1p の欠損のあるオリゴデンドログリオーマでは、神経細胞に関連した機能を持つと考えられる遺伝子の高発現が特徴的であり、そのうちのいくつかは良い診断マーカーとなりうると考えられた。発現プロファイル解析は、分子生物学的見地からの脳腫瘍の再分類にも有用な手段のひとつであると思われる。