

審査の結果の要旨

氏名 武笠 晃丈

本研究は脳腫瘍（グリオーマ）の臨床検体に対して DNA マイクロアレイ (GeneChip™) を用いた網羅的遺伝子発現解析を行うことにより、特に染色体 1p にヘテロ接合性の喪失 (LOH) を認めるオリゴデンドログリオーマの臨床的、分子病理学的な特徴を規定する遺伝子の同定を行い、さらに脳腫瘍に関連する新規診断マーカーの同定を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 染色体 1p のヘテロ接合性の喪失を有するオリゴデンドログリオーマにて特徴的に発現の上昇および低下している遺伝子の同定

- a) オリゴデンドログリオーマの染色体 1p のヘテロ接合性の喪失 (LOH) を認める 6 例、認めない 5 例より得られた約 128626 遺伝子の発現データ (GeneChip U95A) を用いて、両者の比較解析を行った。その結果、この両者の遺伝子発現レベルは random permutation test により統計的に有意な相違があることが示された。
- b) この遺伝子発現データを用いて、染色体 1p の有無により発現の異なる遺伝子の抽出を行った。シグナル・ノイズ比を基にした Prediction value による遺伝子の選出を行い、染色体 1p の LOH を認めるグリオーマで発現の上昇している 86 遺伝子、低下している 123 遺伝子を同定した。さらに、これら合計 209 遺伝子を使用して、正常脳組織での発現レベルとクラスタリング解析を用いて比較解析したところ、染色体 1pLOH を認めるオリゴデンドログリオーマに正常脳組織と共通の性質を有することが示された。
- c) 染色体 1p の LOH を有するオリゴデンドログリオーマで発現の低下している遺伝子の多くは、染色体 1p か 19q 上に遺伝子座を有するものであった。発現が著明に低下しているような癌抑制遺伝子の候補遺伝子は、残念ながら同定出来ていないが、多くの遺伝子の発現が半分程度に減少していることが判明した。オリゴデンドログリオーマの癌化の機構と染色体の欠損の関連に関しては、haplo-insufficiency の可能性も示唆された。またこれは、GeneChip が遺伝子発現の半分の減少も十部に検出する感度を持っていることを示すものでもある。

2. グリオーマのサブグループ、特に染色体 1p のヘテロ接合性の喪失を有するオリゴデンドログリオーマに特徴的な発現を認める遺伝子の同定

- a) オリゴデンドログリオーマ 11 例に加えて、アストロサイトーマ 5 例、グリオblastoma 6 例に対し同様の遺伝子発現プロファイル解析を行い、比較検討した。Significant Analysis of Microarray (SAM) 法を用いることでグリオーマ各サブグループを特徴づける遺伝子セットが同定された。
- b) 染色体 1p の LOH を認めるオリゴデンドログリオーマを特徴づける遺伝子として、発現が有意に上昇している 29 遺伝子が同定された。そしてこれらは、*MYTIL*, *INA*, *RIMS2*, *SNAP91*, *SNCB* などの神経細胞に関連した機能を持つと推定される遺伝子群であった。また、この神経組織との類似性は、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と比較解析することによっても、確認することが出来た。
- c) 同定したいくつかの遺伝子は、GeneChip にて解析しなかったその他の臨床グリオーマ検体に対しても同様の結果が得られることを、定量的 RT-PCR にて確認した。神経細胞に特異的な転写因子だと考えられる Myelin transcription factor 1-like (*MYTIL*) に関して組織学的な解析を行った結果、神経細胞に発現を認めるこの遺伝子の、染色体 1pLOH を有するオリゴデンドログリオーマの腫瘍組織における発現上昇が確認された。このような遺伝子は、化学療法感受性が高く予後が良好なグリオーマを鑑別する際の、良い分子マーカーとして役立つことが期待された。

以上、本論文は脳腫瘍の臨床検体に対して DNA マイクロアレイによる網羅的な遺伝子発現解析を行うことによって、染色体 1p のヘテロ接合性の喪失を有するオリゴデンドログリオーマが、他のグリオーマと明らかに異なる遺伝子発現のパターンをもち、神経細胞の機能に関連する遺伝子が多数発現亢進していることが分かった。個々の遺伝子に関しては、免疫染色や多症例の予後のデータとの相関など今後も詳細な解析を継続する必要があるが、病理学的分類や、診断マーカーとして今後臨床に貢献することが期待される。このように、オリゴデンドログリオーマの分子病理学的な特徴に関して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。