

[別紙 1]

論文の内容の要旨

論文題目 オリゴヌクレオチドアレイの定量性検証とその応用

指導教官 五十嵐隆教授

東京大学医学系大学院医学系研究科

平成10年4月入学

医学博士課程

生殖・発達・加齢医学専攻

氏名 石井雅巳

近年遺伝子発現を網羅的に解析する手法の発達はめざましく、数万の遺伝子を一度に解析する実験系が確立されてきている。これらのなかでアレイ法、そして SAGE 法は最も一般的な方法となってきた。アレイ法のひとつであるオリゴヌクレオチドアレイ法の定量性を検証するためにするために、同一の RNA 試料を用いてオリゴヌクレオチドアレイ法と SAGE 法を施行し両者の結果を比較検討した。ここで用いた RNA 試料は、健康成人血液より分離採取した単球と GM-CSF によって誘導したマクロファージ由来のものである。SAGE 法では単球から 57560 個、マクロファージから 57463 個のタグがそれぞれ得られたが、これは約 28000 個の異なるタグに対応していた。一方オリゴヌクレオチドアレイ法は Affymetrix 社の GeneChip を用いて行っており、これは約 6000 の遺伝子に対応するプローブを含有するものである。比較検討の結果、これら二つの実験系は極めて良好な相関を示すことが判明した。血球の分化に伴う遺伝子発現量の変化率を解析する比較解析、個々の遺伝子の発現の絶対量を解析する絶対解析のいずれの解析においても二つの実験系の相関は良好であった。変化率が大き

い程、遺伝子発現が大きい程二つの実験系の相関は良好であった。遺伝子発現量の変化率を解析する比較解析だけでなく個々の遺伝子の発現の絶対量を解析する絶対解析においても、オリゴヌクレオチドアレイ法は十分信頼できる解析法であることがこれらの結果から結論づけられた。従ってオリゴヌクレオチドアレイ法を共通の実験系として用いて遺伝子発現のデータベースを構築することが可能であると考えられた。

オリゴヌクレオチドアレイの一応用例として同法を用いて神経芽腫の遺伝子発現プロファイリングを行った。神経芽腫は小児期に最も多く見られる悪性固形腫瘍である。本腫瘍は1歳未満の予後良好な群と1歳以上の予後不良な群とに分けられると考えられている。MYCNやTRKA遺伝子などが予後と関連すると報告されているが、まだ完全に解明されてはおらず、また実際に予後予測を行うのは必ずしも容易ではない。予後良好群と不良群の神経芽腫の遺伝子発現レベルでの差を検証するために、オリゴヌクレオチドアレイを用いて両群の遺伝子発現プロファイリングを行った。両群で発現に差があった遺伝子群としてMYCN、TRKA、NM23といった今まで報告されている遺伝子以外にもHIAP1やp19^{INK4d}といったアポトーシス、細胞周期関連の遺伝子が多数抽出された。これらの遺伝子は神経芽腫の悪性化に関与する可能性、あるいは神経芽腫の分類や予後予測に有用である可能性が強く示唆され、将来の研究につながる有望な遺伝子群と考えられた。