

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 Natini Jinawath

本研究は、diffuse type 胃がんの発生・進展メカニズムと、腫瘍の特性を明らかにするため、cDNA マイクロアレイを用いた網羅的な遺伝子発現解析を行ったものである。発表内容は、diffuse type 胃がんの遺伝子発現プロファイルの解析と発がんに関与する遺伝子の同定により構成されており、下記の結果を得ている。

1. 20 例の diffuse type 胃がんと、同じ患者の正常粘膜から、レーザーマイクロビーム・マイクロダイセクション法によりがん細胞と正常上皮細胞を採取し、23,040 遺伝子を含む cDNA マイクロアレイを用いて、網羅的な遺伝子発現解析を行った。その結果、50% 以上の症例で共通して発現が 2 倍以上増加する遺伝子 153 種類と、50% 以上の症例で共通して発現が 2 分の 1 以下に減少する遺伝子を 1,500 種類以上同定した。共通して発現上昇する遺伝子群には、*S100A10*, *ANXA1*, *PLAB* などのシグナル伝達に関与する遺伝子、*SPARC*, *MMP7*, *FN1*, *COL3A1*, *TIMP1* などの細胞外マトリクスのリモデリングに関与する遺伝子、*TGFBI*, *CDC25B*, *CDC20* などの増殖や細胞周期に関与する遺伝子などが含まれていた。
2. diffuse type 胃がんと intestinal type 胃がんを合わせた計 40 症例の遺伝子発現情報を用いて、unsupervised cluster analysis を行った。その結果、40 症例は diffuse type 胃がんと intestinal type 胃がん に正しく分類された。したがって、これら 2 つの種類の腫瘍は異なった遺伝子発現パターンをもっていることが証明された。さらに 2 群で発現が特に異なっている遺伝子の中で、diffuse type 胃がんには細胞—間質相互作用にかかわる遺伝子が高発現する特徴があり、intestinal type 胃がんでは細胞増殖に関与する遺伝子

が発現上昇する特徴があった。

3. diffuse type 胃がんと intestinal type 胃がんの発現情報を用いて、random permutation tests を行った結果、2つのグループで有意に異なる発現を呈する遺伝子 46 種類を同定した。さらに diffuse type 胃がんの中で血管浸潤の有無、リンパ管浸潤の有無、リンパ節転移の有無により発現が異なる、それぞれ 13, 11, 31 種類の遺伝子を見いだした。これらの遺伝子は diffuse type 胃がんの進展に関与する可能性が示唆された。
4. diffuse type 胃がんで 50% 以上の症例で共通して発現が 2 倍以上増加する遺伝子 153 種類のうち、染色体 9q22.32 に位置し、RNA 認識モチーフを N 末領域にもつ、分子量約 150kDa のタンパクをコードする新規遺伝子 *NOL8* を同定した。
5. *NOL8* は intestinal type 胃がんに比べ、diffuse type 胃がんに特異的に発現し、ノーザンブロット解析では、*NOL8* は骨格筋に発現していたが、他の 22 正常臓器での発現はほとんど認められなかった。また免疫染色の結果、*NOL8* タンパクは核小体に局在した。脱リン酸化酵素処理により分子量が変化することから、*NOL8* はリン酸化タンパクであることが示唆された。さらに *NOL8* 特異的な short interfering RNA を胃がん細胞 St-4、MKN45、TMK-1 に導入すると、*NOL8* の発現を抑制するとともに、がん細胞にアポトーシスを誘導した。これらの結果は、*NOL8* が diffuse type 胃がんに関与することを示しているのみならず、*NOL8* を標的とした diffuse type 胃がんに対する新たな治療法開発に応用できることを示唆している。

以上、本論文は diffuse type 胃がんと intestinal type 胃がんが異なった遺伝子発現パターンをもっていることを示し、特に、*NOL8* が diffuse type 胃がんに対する新たな治療法開発に応用できることを明らかにした。本研究は、予後が不良である diffuse type 胃がんの発生・進展メカニズムの解明及び治療法開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。