

| | |
|--------------|---|
| Title | Molecular classification of primary breast tumors possessing distinct prognostic properties |
| Author(s) | 小泉, 恭子 |
| Citation | 大阪大学, 2004, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45326 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

| | |
|------------|--|
| 氏名 | こいずみ いわお きょう こ 小泉 (岩尾) 恭 子 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (医 学) |
| 学位記番号 | 第 18544 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 16 年 3 月 25 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻 |
| 学位論文名 | Molecular classification of primary breast tumors possessing distinct prognostic properties (乳癌の予後を決定する遺伝子群の同定) |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 野口眞三郎 (副査) 教 授 戸田 達史 教 授 門田 守人 |

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

乳癌の予後を正確に予測することは、治療方針を決定する上で極めて重要である。現状では乳癌の予後は、古典的な予後因子（腫瘍型・リンパ節転移・組織学的異型度）によって判定されているが、その予測精度では不十分であり、より正確な予後診断法の開発が求められている。また、乳癌に対する化学療法の治療効率向上させるためには化学療法感受性の正確な診断法を開発する必要がある。そこで、今回我々は、遺伝子発現プロファイル解析による乳癌の分子分類を用いた新しい予後診断法、並びに、化学療法感受性の診断法を開発すべく本研究を行った。

[方法ならびに成績]

(1)乳癌の予後診断法

現在までに報告されている乳癌の分子分類に関する研究では、すべて microarray を用いた遺伝子発現解析が採用されている。Microarray は、多数の遺伝子発現 (20,000-30,000 遺伝子) を同時に解析できる high throughput な解析法であるが、特異性や再現性の点でまだ解決すべき問題が残されている。一方、Kato K.ら (Nucleic Acids Res 1997) が開発した ATAC (adaptor-tagged competitive) -PCR 法は、microarray に比べて一度に解析できる遺伝子数はほぼ一桁低い (約 2500 遺伝子) が、その特異性、再現性の点では非常に優れており信頼性の高いデータを集積することができると思われる。そこで、今回我々は、ATAC-PCR 法を用いて以下の如く遺伝子発現解析を実施した。

ヒト乳癌組織由来 (n=12) の mRNA より cDNA ライブラリーを作成しランダムにクローニングした遺伝子に、文献上重要と思われる遺伝子を追加して、最終的に乳癌で発現の見られる 2412 遺伝子を選択した。次に、この 2412 遺伝子の発現を定量的に解析し得る ATAC-PCR 法のシステムを確立した。原発乳癌 98 例を対象として 2412 遺伝子の発現プロファイルを解析し、エストロゲン受容体 (ER- α) と有意に相関する 21 遺伝子を抽出した。予後の判明している別の乳癌症例 (110 例) を対象としてこの 21 遺伝子の発現を ATAC-PCR 法で解析したところ、乳癌を 3 群 (I、II、III 群) にクラスター分類することができた。II+III 群は、I 群に比して有意に予後が不良であり、かつ、この分

子分類は古典的な予後因子（リンパ節転移、腫瘍径、ER- α 、組織学的異型度）とは独立した予後因子であることを明らかとした。

(2)乳癌のドセタキセル感受性の診断法

局所進行乳癌および局所再発乳癌（計 44 例）を対象として、まず、化学療法施行前に病巣より腫瘍サンプルを採取し、その後ドセタキセル（60 mg/m²）を4サイクル投与し、臨床効果を判定した。腫瘍サンプルから total RNA を抽出し、ATAC-PCR 法にて 2453 遺伝子（上述の 2412 遺伝子に文献上ドセタキセル感受性に関与すると考えられる遺伝子を追加）の発現情報を得た。Signal-to-noise 法でドセタキセル有効群と無効群で発現量に差のある遺伝子を抽出し（85 遺伝子）、次に、weighted voting 法を用いてドセタキセルの効果を予測する最適の診断システムを作成した（supervised learning）。この診断システムの妥当性を、新たに集積した 26 例を対象として prospective に検討したところ、高率に（正診率 81%）ドセタキセルの感受性を予測し得ることが確認された。ドセタキセル無効群で発現が亢進する遺伝子群の中には thiol 関連の遺伝子が多数含まれていた。それらの遺伝子の中で代表的な遺伝子（*thioredoxin*, *glutathione-S transferase Pi 1*, *peroxiredoxin*）を選んで、乳癌細胞株（MCF-7）に導入したところ、ドセタキセル耐性を誘導することができた。

[総括]

ATAC-PCR 法を乳癌組織の遺伝子発現プロファイル解析に応用した今回の検討によって、(1)ER- α と相関する 21 遺伝子の発現プロファイルに基づいた乳癌の分子分類は、従来の予後因子とは独立した予後因子となり得ること、更には、(2)ドセタキセル有効群と無効群で発現量に差のある 85 遺伝子を用いた診断システムがドセタキセルの効果予測に有用であることが、明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

乳癌の予後を正確に予測することは、治療方針を決定する上で極めて重要である。現状では乳癌の予後は、古典的な予後因子（腫瘍型・リンパ節転移・組織学的異型度）によって判定されているが、その予測精度では不十分であり、より正確な予後診断法の開発が求められている。本研究の目的は、遺伝子発現プロファイル解析による新しい乳癌の予後診断法を開発することである。本研究ではまず 10 個の乳癌組織より抽出した RNA を mix して平均的な乳癌の cDNA library が作成され、最終的に 2412 遺伝子の情報を得て、これらの遺伝子について ATAC-PCR 法で発現が解析できるシステムが作成された。次に原発乳癌 98 例を対象として 2412 遺伝子の発現プロファイルを解析し、エストロゲン受容体（ER- α ）と有意に相関する 21 遺伝子が同定された。予後の判明している別の乳癌症例を対象としてこの 21 遺伝子の発現を ATAC-PCR 法で解析したところ、乳癌を 3 群（I、II、III 群）に分類することができた。II+III 群は、I 群に比して有意に予後が不良であり、かつ、この分子分類は古典的な予後因子とは独立した予後因子であることを明らかとした。

また同様の手法を用いて、抗癌剤ドセタキセルの効果予測システムを構築し、その有用性を prospective に検証したところ、81%という高い正診率を得ることができた。

乳癌における遺伝子発現は乳癌の本質的性質を反映していると考えられ、ATAC-PCR 法を用いた網羅的遺伝子発現解析により、既存の診断基準よりもより精度の高い診断法が確立されることが示唆された。本研究は将来の臨床応用が期待され、学位に値するものとする。