Osaka University Knowledge Archive

Title	Genetic Analysis of Human Glioblastomas using a Genomic Microarray System
Author(s)	鈴木, 強
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45360
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【109】

氏　　名	鈴木　強（すずき　つよし）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　18537　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	Genetic Analysis of Human Glioblastomas using a Genomic Microarray System （ゲノムマイクロアレイを用いた膠芽腫の遺伝子解析）
論文審査委員	（主査） 教　授　吉峰　俊樹 （副査） 教　授　遠山　正彌　　教　授　野村　大成

論文内容の要旨

［目的］

細胞の腫瘍化や腫瘍の悪性化には複数の遺伝子異常が関与していると考えられている。遺伝子異常の解析にはいくつかの方法がある。そのうちサザンブロッティング、定量的PCR、FISHなどでは目的とする限られた遺伝子は解析できるものの共存する他の遺伝子異常については情報が得られない。Comparative Genomic Hybridization（CGH）法では全ゲノム領域における染色体異常が一度に解析できるが、狭い染色体領域の異常の検出や異常遺伝子の同定は難しい。これらに対し、近年開発されたCGH法を応用したゲノムマイクロアレイ法では極めて多数の遺伝子についての情報を一度に解析できる点が特徴である。神経膠腫のうち最悪性である膠芽腫では多数の遺伝子異常が報告されているがその全貌はまだ明らかになっていない。本研究ではゲノムマイクロアレイ法を用いて膠芽腫の全ゲノム領域について遺伝子異常を解析した。

［方法ならびに成績］

膠芽腫30例（初発23例、再発4例、再発時悪性転化3例）の手術摘出組織より凍結切片を作成しDNAを抽出した。Cy3（緑色）で蛍光標識した腫瘍DNAとCy5（赤色）で標識した正常DNAをDNaseにより1-1.5 kbp程度まで切断後、アレイスライド上で競合的にハイブリダイズさせた。GenoSensor Array 300（Vysis, USA）はクロムコートされたスライドグラスの上にP1、PAC、BAC clone由来のDNA（細胞周期関連遺伝子または特定の染色体領域を含むDNA断片など）が287種類スポットされ、さらに検出結果の再現性を確認するために同一のターゲットが3個ずつ計861スポットが貼り付けられている。GenoSensor System解析装置（Vysis, USA）を用いそれぞれのターゲットの蛍光強度の比（Cy3/Cy5比）を計算し、腫瘍由来の遺伝子の増幅、欠失を検出した。Cy3/Cy5比が1.2を越えるものを増幅、0.8未満のものを欠失とした。増幅は全例でみられ、その主な遺伝子は*RFC2/CYLN2*（63.3%）、*EGFR*（53.3%）、*IL6*（53.3%）、*ABCB1*（*MDR1*）（36.7%）、*PDGFRA*（26.7%）であった。このうち18例では*EGFR*（23.3%）、*KIT*（13.3%）、*PDGFRA*（13.3%）、*SAS/CDK4*（13.3%）、*GLI*（6.7%）などの遺伝子がCy3/Cy5比2.0を越える高増幅を示した。欠失も全例で見られ、主な遺伝子は*FGFR2*（66.7%）、*MTAP*（60.0%）、*DMBT1*（56.7%）、*CDKN2A*（*p16*）（50.0%）、*PIK3CA*（43.3%）、*EGR2*（43.3%）であった。一方、*RB1*や

TP53 の異常はほとんど見られなかった。染色体レベルでの異常としては増幅が 7q（33.3%）、7p（20.0%）、17q（13.3%）などに認められ、欠失は 10q（46.7%）、13q（23.3%）、11p（20.0%）、22q（20.0%）で認められた。10 番染色体の全欠失は 9 例（30.0%）に見られ、さらに *EGFR* の増幅を伴っているものがそのうち 7 例に認められた。*PDGFRA* と *KIT* の共増幅は高頻度に見られ *GLI* と *SAS/CDK4* も同様であった。*MTAP* と *CDKN2A*（*p16*）の共欠失も高頻度で認められた。さらにこれまで神経膠腫ではほとんど報告されていなかった *PIM1*、*CCND1*、*FGF4/FGF3*、*MAP2K5*、*PACE4C* などが単独高増幅を示す例が存在することも明らかとなった。

［総括］

本研究では手術摘出組織から多量の遺伝子情報を得ることにより、膠芽腫における多数の遺伝子が増幅、高増幅あるいは欠失を示し、その異常が従来の知見に増して多岐にわたることが明らかとなった。とくに *EGFR* や *PDGFRA* が高頻度で増幅あるいは高増幅している点は分子標的療法の面で注目され、また従来注目されていなかった遺伝子の単独高増幅例の存在も明らかになった。これらの知見は膠芽腫について単なる病理組織学的診断にとどまらず、分子遺伝学的特性に基づく個々の腫瘍の個別診断、個別治療への道を開いたものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本研究でゲノムマイクロアレイ法を用いて、膠芽腫の全ゲノム領域に存在する多数の遺伝子について解析を行った結果、全症例において、何らかの遺伝子増幅あるいは欠失、染色体レベルでの異常が認められた。また 30 例中 18 例においては単独高増幅も認められ、さらにこの種の脳腫瘍で従来注目されていなかった遺伝子の高増幅を持つ例の存在も明らかとなった。これより、膠芽腫では多数の遺伝子が増幅、高増幅あるいは欠失を示すことが明らかとなり、その異常が従来の知見に増して多岐にわたることが明らかとなった。また *EGFR* や *PDGFRA* の増幅あるいは高増幅している症例も数多く認められ、分子標的療法の面でも注目されうるものであった。

以上より、本研究の成果は膠芽腫において分子遺伝学的特性に基づく個々の腫瘍の個別診断はもとより、個別治療への応用も期待される価値のあるものである。また今後の脳腫瘍の基礎研究や臨床応用に貢献すると考えられ、学位の授与に値するものと考える。