

Title	Molecular-based prediction of early recurrence in hepatocellular carcinoma
Author(s)	黒川, 幸典
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45421
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	黒川幸典
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19319 号
学位授与年月日	平成 17 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-based prediction of early recurrence in hepatocellular carcinoma (肝細胞癌の早期再発に対する遺伝子診断法の確立)
論文審査委員	(主査) 教授 門田 守人 (副査) 教授 林 紀夫 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

〔目的〕

肝細胞癌は非常に予後不良の癌であり、根治切除後も約半数の症例が術後 2 年以内の早期再発を生じる。しかし、様々な臨床病理学的な指標を用いても早期再発を予測するのは非常に困難であるため、術後補助療法の適応決定のためにも、的確に再発高危険群を選別する方法の開発が待たれている。そこで、高精度の解析が可能なアダプター付加競合 PCR (ATAC-PCR) 法を原理とした PCR-array を用いて肝細胞癌の網羅的遺伝子発現解析を行い、遺伝子診断による術後早期再発予測の有用性について検討した。

〔方法〕

対象は、1997 年 1 月より 1999 年 10 月までに大阪大学医学部附属病院にて肉眼的根治切除を行い、術後 2 年以上の観察期間の得られた肝細胞癌 60 症例。ヒト肝組織から採取した RNA をもとに、3 種類の肝特異的 cDNA ライブラリーを作成し、ランダムシーケンスによって得られた 2774 遺伝子に、消化器癌関連 298 遺伝子を加えた計 3072 遺伝子について、ATAC-PCR 法の手法を用いた PCR-array による RNA 発現量の測定を行った。対象 60 症例を術後 2 年以内の残肝再発群 32 例と無再発群 28 例とに分け、5 万回の無作為並べ替え検定にて両群間で大きく発現量の異なる遺伝子群を同定し、これらの遺伝子を用いた weighted voting 方式による遺伝子診断法を構築した。各遺伝子は無作為並べ替え検定の P 値によってランク付けし、leave-one-out 交差検証法により最も正診率の高い遺伝子セットを決定した。さらに 1999 年 11 月以降に当院にて肉眼的根治切除を行った 40 症例を追加し、この遺伝子診断法の予測能を検証した上で、Cox の多変量解析による独立性の検討、さらに再発率および生存期間を用いた検討も行った。

〔成績〕

無作為並べ替え検定にて、術後 2 年以内の残肝再発の有無に関して有意差 ($P < 0.05$) を認めた遺伝子は 92 個存在した。これら 92 個の遺伝子のうち、P 値によるランキング上位 20 個の遺伝子セットを用いた遺伝子診断法が交差検証法にて最も高い正診率 (83.3%) を示した。この 20 遺伝子には、*E-cadherin*、*M6P/IGF2R*、*RB1* などの既知の

肝細胞癌関連遺伝子以外に、*ALCAM*、*FLJ37965*、*NRG2*、*RGS5*、*HSPA1A*、*DAPK1*、*EST2139949*、*SIAHBP1*、*EST390150*、*VPS35*、*BAT1*、*KRT8*、*HLA-B*、*NMT1*、*HLA-A*、*USP39*、*AK1*が含まれていた。追加 40 症例での検証では、正診率 72.5% ($P=0.010$ 、オッズ比 6.8、95%信頼区間 1.7–27.5) であり、単変量解析で有意差を示した腫瘍径、腫瘍個数、脈管侵襲の有無を共変量とした Cox 多変量解析ではこの遺伝子診断のみが有意な予後因子であった ($P=0.007$ 、ハザード比 3.82、95%信頼区間 1.44–10.10)。また、この遺伝子診断によって、有意に再発率および生存期間の異なる 2 群に分別することができた ($P=0.001$ 、 $P=0.036$)。

〔総括〕

残肝再発群と無再発群の間でもっとも発現量の差の大きかった 20 個の遺伝子を利用した遺伝子診断法 (PCR-array による RNA 発現量の測定) は、従来の予後因子とは独立した新しい再発予測因子であり、肝細胞癌の術後補助療法適応の個別化に有用であると考えられた。

論文審査の結果の要旨

肝細胞癌は根治切除後も約半数の症例が術後 2 年以内の早期再発を生じる予後不良の癌である。しかし、様々な臨床病理学的な指標を用いても早期再発を予測するのは非常に困難であるため、的確に再発高危険群を選別する方法の開発が待たれている。そこで、肝細胞癌 100 症例分の切除標本を用いて PCR-array による網羅的遺伝子発現解析を行ったところ、術後 2 年以内の残肝再発の有無と発現量との間で有意に相関した 92 個の遺伝子を選択することができた。これら 92 個の遺伝子のうち、より相関性の高い 20 個の遺伝子のみを用いて weighted voting 方式による診断を行った場合、estimation group で 83.3%、validation group で 72.5% の早期再発予測能が認められた。また、多変量解析でもこの遺伝子診断法は腫瘍径、腫瘍個数、脈管侵襲といった従来の予後因子と独立していることが確認された。このように、20 個の遺伝子を用いた遺伝子診断法 (PCR-array による RNA 発現量の測定) は、従来の予後因子とは独立した新しい再発予測因子であり、肝細胞癌の個別化医療に有用である可能性が示され、以上の研究は学位の授与に値すると考える。