



Title	Gene expression of colorectal cancer : Preoperative genetic diagnosis using endoscopic biopsies
Author(s)	小森, 孝通
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49028
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名 小 森 孝 通

博士の専攻分野の名称 博士（医学）

学位記番号 第 21841 号

学位授与年月日 平成 20 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 Gene expression of colorectal cancer : Preoperative genetic diagnosis using endoscopic biopsies
(大腸癌の内視鏡下生検標本を用いた遺伝子発現プロファイル解析による術前遺伝子診断)

論文審査委員 (主査)
教授 門田 守人
(副査)
教授 青笹 克之 教授 野口眞三郎

論文内容の要旨

〔目的〕

大腸癌の診断・治療体系において、術前に化学放射線療法の感受性やリンパ節転移の有無など、悪性度の予測診断が正確にできるようになれば、個々の症例に応じた最適な治療方針を提供できるようになることが期待される。しかしながら、従来の画像診断や病理組織診断など形態学に基づいた診断では限界があり、新しい診断方法の開発・臨床応用が求められるようになった。DNA マイクロアレイ技術を用いた遺伝子発現プロファイル解析は、あらゆる癌腫において生物学的特性の分類や癌関連遺伝子群の同定に成果を挙げているが、多くは手術切除標本を対象としたものである。これらの成果を内視鏡下生検標本を対象として臨床応用できれば、化学放射線療法の効果予測とそれに対応した治療方法の選択、術前のリンパ節転移予測による至適切除術式の決定など、その臨床的意義は非常に大きい。そこで、大腸癌の術前内視鏡下生検標本を用いた、遺伝子発現プロファイル診断の臨床応用の妥当性について検討した。

〔方法〕

大腸内視鏡検査下で得られた治療前生検標本（大腸癌 10 例、腺腫 10 例：遺伝子解析用と病理組織確認用に隣接した 2 ペア）および、内視鏡または手術により切除された組織（大腸癌 6 例、正常粘膜 8 例）を解析対象とした。大腸癌解析用 cDNA マイクロアレイ（4608 クローン、Biochem Biophys Res Commun 285 : 1244-9, 2001）を使用し、各標本より遺伝子発現データを取得した。生検という微小標本から得られる発現データの信頼性について、種々の癌関連遺伝子群の変動をこれまでの論文報告や公共データベースと比較し検証した。遺伝子発現パターン of 腫瘍内不均一性と腫瘍間不均一性について、同一腫瘍内の 2 ケ所と個体間の違いを階層的クラスター解析によって比較検討した。また、大腸癌で特徴的な発現パターンを示す遺伝子を signal-to-noise ratio 法を用いて選択し、それぞれコードされるタンパクについて免疫染色を行い、タンパクレベルでの腫瘍内不均一性を検討した。さらに、大腸癌・腺腫から得た生検標本の発現データをもとに、supervised classification method（weighted voting 法、leave-one-out 交差検証法）を用いて腫瘍の悪性度診断の可能性を検討した。

〔成績〕

微小な内視鏡下生検標本を用いても、大腸癌・正常粘膜で遺伝子発現パターンは大きく異なり、癌関連遺伝子群の変動も切除腫瘍組織を用いたこれまでの論文報告や公共データベースとほぼ合致することが確認できた。同一腫瘍から得た2つの生検標本の遺伝子発現パターンの相同性は高く、ほぼ全例で隣同士にクラスタリングされ、腫瘍内不均一性は腫瘍間不均一性より小さいことが判明した（相関係数：mean, 0.83 vs 0.58, $p < 0.0001$ ）。大腸癌で特徴的な発現パターンを示す7遺伝子について行った免疫染色では、5遺伝子が腫瘍表層部で均一に染色され、クラスタリング解析の結果と一致する結果であった。内視鏡下生検標本を用いた遺伝子発現プロファイル解析による大腸腫瘍の悪性度診断では、判別予測能の高い8～71遺伝子によって大腸癌と大腸腺腫を97.5%の正診率で識別する事が可能であった。

〔総括〕

術前の大腸腫瘍内視鏡下生検標本から手術切除標本と同様に、DNA マイクロアレイを用いて、信頼性の高い体系的遺伝子発現情報を得ることができた。生検標本の遺伝子発現パターンの腫瘍内不均一性は腫瘍間不均一性より小さく、腫瘍の悪性度判定に有用であり、大腸内視鏡下生検標本を用いた遺伝子発現プロファイル診断の妥当性が確認された。今後、大腸癌原発巣の遺伝子発現データをもとにした化学放射線療法の効果予測やリンパ節転移予測など、腫瘍が持つ生物学的特徴の判別へ発展・臨床応用させることで、大腸癌の術前療法や手術術式の選択を含めた総合的な治療戦略の確立が期待された。

論文審査の結果の要旨

大腸癌の診断・治療体系において、術前に化学放射線療法の感受性予測やリンパ節転移予測が正確にできるようになれば、大腸癌制圧に向けた個別化医療の具象化が期待される。本研究では、DNA マイクロアレイを用いて、大腸癌の内視鏡下生検標本を対象とした遺伝子発現プロファイル解析の妥当性について検討した。

大腸癌10例・腺腫10例を対象に、同一腫瘍内の異なる部位と、異なる腫瘍から得られた内視鏡下生検標本の遺伝子発現パターンの違いを比較検討することにより、遺伝子発現パターンの腫瘍内不均一性は腫瘍間不均一性より小さいことが判明した。さらに、内視鏡下生検標本の遺伝子発現データをもとに腫瘍の悪性度診断の可能性を検討したところ、大腸癌・腺腫を正しく識別する事が可能であった。本研究により、手術切除標本と同様に、術前の内視鏡下生検標本においても、DNA マイクロアレイを用いた遺伝子発現プロファイル解析が適切に行えることが判明し、大腸癌の術前診断への臨床応用が期待された。以上より、本研究は学位に値するものと認める。