

論文内容の要旨

申請者氏名 谷口 一也

癌発生過程では、癌関連遺伝子や染色体レベルで様々な異常が見られる。これらの異常は各組織、各個人で様々であり、個々の癌の特徴を捉えて治療に結び付けようとする個別化医療へ向けた研究が盛んに行われている。癌の特徴を捉える手法の一つとして、mRNA やタンパク質の発現量を多数の遺伝子に関して比較する遺伝子発現プロファイリングがある。特に、マイクロアレイや DNA チップを用いた研究は近年数多くなされており、癌の分類の他にも治療標的遺伝子の探索、抗癌剤感受性、薬剤代謝等さまざまな方面で利用されている。本研究では遺伝子発現プロファイリングや遺伝子変異の情報を基に癌を分類し、現在問題となっている臨床課題について検討を行った。

まず、甲状腺癌の分野で最も問題となっている「甲状腺濾胞腺腫と濾胞癌の分類」を、本研究室独自の手法である ATAC PCR 法を用いた遺伝子発現プロファイリングにより試みた。濾胞癌 22 症例、濾胞腺腫 45 症例から得られた発現プロファイリングの情報から両者を区別する遺伝子群の選択と予測アルゴリズムの構築を行った。その結果、60 遺伝子を用いたときの予測精度が最も高く 90.0%であった。さらに、テストサンプル 18 症例を用いて予測精度を検証したところ、83.3%の精度で分類可能であった。さらに、乳頭癌、正常甲状腺組織を加えた 4 種の甲状腺癌の組織分類を行うために新たに多クラス分類器を構築し、既存の多クラス分類器よりも高い精度で分類することが可能となった。

次に、ゲフィチニブ感受性に関する非小細胞肺癌の分類を行った。近年、EGFR 遺伝子に変異がある症例にゲフィチニブが奏効することが明らかとなった。しかし、変異がある症例においてもゲフィチニブの効果が認められない症例が約 2 割存在する。そこで、各症例の EGFR 遺伝子をランダムクローニングすることにより変異 mRNA 比率の推定を行い、変異 mRNA の定量的な指標とゲフィチニブに対する抗腫瘍効果との関連を検討した。その結果、変異 mRNA 比率が低い症例群ではゲフィチニブの効果が低くなっていた。さらに、細胞単位でのゲフィチニブへの感受性を明らかにするために非小細胞肺癌内の EGFR 遺伝子変異の組織内多様性を調べ、抗腫瘍効果との関連を調べた。同一症例内に EGFR 遺伝子に関して変異を持つ癌細胞と持たない癌細胞が混在する症例(混在例)が 6 症例同定され、その他の 15 症例はすべての領域で変異 EGFR 遺伝子を含んでいた。混在例とその他の症例とで臨床経過の差異を検討したところ、腫瘍増殖停止期間 ($p=0.009$)、及び全生存期間 ($p=0.003$) で混在例の方が有意に予後不良の経過を示していた。

発現プロファイリングや遺伝子変異による癌の分類は、いわゆる癌の個別化医療において重要な役割を担っている。これら 2 つの研究により癌の分子分類に大きな貢献ができたと考えている。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 谷口 一也

癌の特徴を捉える手法の一つとして、mRNA やタンパク質の発現量を多数の遺伝子に関して比較する遺伝子発現プロファイリングがある。特にマイクロアレイや DNA チップを用いる手法は、癌の分類、治療標的遺伝子の探索、抗癌剤感受性、薬剤代謝など、様々な方面で利用されている。

本研究では、遺伝子発現プロファイリングや遺伝子変異の情報を基に癌を分類する手法の確立とその臨床課題への応用の可能性について研究を行った。まず、甲状腺癌の分野で最も問題となっている「甲状腺濾胞腺腫と濾胞癌の分類」を試み、サンプル症例について 83.3%の精度で分類可能である予測器の構築に成功した。臨床応用に大きな手がかりとなることが期待される。さらに、乳頭癌、正常甲状腺組織を加えた 4 種の甲状腺癌の組織分類を行うために、新たに多クラス分類器を構築した。発現プロファイリングのデータ取得に関する再現性の問題や更なる分類手法の進展により、組織病理学的な診断を補助することが可能となることが期待される。

次に、ゲフィチニブ感受性に関する非小細胞肺癌の分類を行った。ゲフィチニブは非小細胞肺癌に用いられる上皮成長因子受容体 (EGFR) のチロシンキナーゼドメインにおける ATP の結合を競合的に阻害する分子標的治療薬である。変異 mRNA の定量的な指標とゲフィチニブに対する抗腫瘍効果との関連を検討した結果、変異 mRNA 比率が低い症例群ではゲフィチニブの効果が低くなっていた。さらに、非小細胞肺癌内の EGFR 遺伝子変異の組織内多様性を調べ、同一症例内に EGFR 遺伝子に関して変異を持つ癌細胞と持たない癌細胞が混在する症例 (混在例) を同定した。EGFR 遺伝子変異に関する混在例は、ゲフィチニブの効かない癌細胞が治療中から増殖するため早期に進行し生存期間が短縮することを示している。これらの結果により、遺伝子変異解析における組織内多様性の重要性を初めて示すことができた。

発現プロファイリングや遺伝子変異による癌の分類は、いわゆる癌の個別化医療において重要な役割を担っている。甲状腺癌の研究では新規多クラス分類器の開発を行い、遺伝子発現プロファイルによる診断法の改良に貢献した。ゲフィチニブの研究ではこの 2 つの研究により癌の分子分類に大きな貢献ができたと考えている。

以上のように、本論文は、分子プロファイルによる固形癌の分類の可能性と臨床応用への展開への道筋を示したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。