

氏名	井上 正広
学位の種類	博士 (医学)
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 27 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 (博士課程) 医科学専攻
学位論文題目	網羅的遺伝子発現解析による大腸癌の層別化と分子生物学的特徴の解析
論文審査委員	主査 教授 石岡千加史 教授 大内 憲明 教授 田中 耕三

論文内容要旨

【背景】

大腸癌は肺癌、乳癌および前立腺癌とともに、近年、罹患数の増加が顕著な癌の 1 つである。大腸癌に対するがん薬物療法は、この 10 年間に著しく進歩し、全生存期間が著明に延長した。

DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析は癌の分子生物学的特徴の解析や、予後予測および抗癌剤感受性予測のためのバイオマーカーの探索に有用なツールである。これまで、マイクロアレイ解析を行うには、新鮮凍結標本から抽出した分解のない RNA が必要であった。しかし最近、ホルマリン固定パラフィン包埋 (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded : FFPE) 組織から抽出した RNA を用いて、網羅的遺伝子発現解析を行うことが可能になった。FFPE 組織から抽出した RNA を用いた大腸癌の網羅的遺伝子発現解析は、治療法選択のためのバイオマーカーの開発や、それぞれの分子生物学的特徴に応じた新規分子標的薬の開発につながると期待される。

【目的】

本研究は切除不能進行再発大腸癌の原発巣の FFPE 組織を用いて、網羅的遺伝子発現解析と、大腸癌発がんに関連する遺伝子の変異解析およびタンパク質の免疫組織染色を統合的に解析することにより、遺伝子発現プロファイルから大腸癌の heterogeneity の存在とその中の分子生物学的特徴を明らかにすることを目的とする。

【方法】

研究対象は 2005 年から 2010 年までに切除不能進行再発大腸癌の診断でがん薬物療法を施行した症例 100 例である。FFPE 組織から DNA および RNA を抽出した。DNA シークエンス法により遺伝子変異解析を行い、マイクロアレイにより網羅的遺伝子発現解析を行った。網羅的遺伝子発現解析の結果得られたサブグループと遺伝子変異、免疫組織染色および臨床像との関連性について解析した。

【結果】

網羅的遺伝子発現解析における教師なし階層クラスター解析の結果、大腸癌はクラスター A1、A2、B1 および B2 の計 4 つサブグループに分類された。主成分分析の結果、第 1 主成分と第 2 主成分の 2 軸によって、これら 4 つのクラスターを分類することが可能であった。

クラスター B は A と比較し、有意に *KRAS* 変異型が多く含まれていた。1 次治療において I-OHP または CPT-11 を含む治療ではクラスター 2 は 1 と比較して有意に PFS が短かった。抗 EGFR 抗体薬による治療においては、クラスター B は A に比べ、PFS は短い傾向にあり、*KRAS* 野生型症例と比較しても同様の傾向を認めた。クラスター A2 は *EREG* と *AREG* の発現が亢進していた。クラスター A1 と B1 は *PTEN* の発現が低下していた。

【結語】

大腸癌は教師なし階層クラスター解析の結果、2軸によって分けられる4つのクラスター (A1、A2、B1 および B2) に分類された。各クラスター間において分子生物学的および臨床病理組織学的特徴に差が認められた。また、クラスターAとBを分ける発がん経路としてEGFR経路の活性化様式の違いがあることが示唆された。また、クラスター1と2ではI-OHP、CPT-11 および5-FUなどの古典的抗がん剤の併用療法の感受性が異なっていた。これらの結果から、遺伝子発現プロファイルから大腸癌の heterogeneity の存在が示唆された。今後、前向きまたは後ろ向き試験を計画し、結果の妥当性を検証する必要がある。

審査結果の要旨

博士論文題目 網羅的遺伝子発現解析による大腸癌の層別化と分子生物学的特徴の解析.....

所属専攻・分野名 医科学 専攻 がん薬物療法.....

学籍番号 氏名 井上 正広.....

本研究は、切除不能進行再発大腸癌の原発巣の FFPE 組織を用いて、網羅的遺伝子発現解析と、大腸癌発がんに関連する遺伝子の変異解析およびタンパク質の免疫組織染色を統合的に解析することにより、遺伝子発現プロファイルから大腸癌の heterogeneity の存在とその中の分子生物学的特徴を明らかにすることを目的とした研究である。研究対象は切除不能進行再発大腸癌の診断でがん薬物療法を施行した症例 100 例であり、FFPE 組織から抽出した DNA および RNA を用いて、DNA シークエンス法により遺伝子変異解析を行い、マイクロアレイにより網羅的遺伝子発現解析が行われた。

網羅的遺伝子発現解析における教師なし階層クラスター解析の結果、大腸癌はクラスターA1、A2、B1 および B2 の計 4 つサブグループに分類された。主成分分析を行った結果、これら 4 つのクラスターを第 1 主成分と第 2 主成分の 2 軸によって分類することができること、クラスターB はAと比較し、有意に *KRAS* 変異型が多く含まれていること、1 次治療において 1-OHP または CPT-11 を含む治療ではクラスター2 は 1 と比較して有意に PFS が短いこと、抗 EGFR 抗体薬による治療においては、クラスターB は A に比べ、PFS は短い傾向にあり、*KRAS* 野生型症例と比較しても同様の傾向を認めること、クラスターA2 は *EREG* と *AREG* の発現が亢進していること、および、クラスターA1 と B1 は *PTEN* の発現が低下していることを明らかにした。これらの結果から、クラスターA と B を分ける発がん経路として EGFR 経路の活性化様式の違いがあることが示唆された。また、クラスター1 と 2 では 1-OHP、CPT-11 および 5-FU などの古典的抗がん剤の併用療法の感受性が異なっており、遺伝子発現プロファイルから大腸癌の heterogeneity の存在が示唆された。

このように、本研究は複数の新規知見を含み、将来、本研究が発展すれば大腸癌のバイオマーカーの開発につながる可能性がある。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。