

氏 名	かん 姜 たか 貴 つぐ 嗣
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2615 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Gene expression profiling in human esophageal cancers using cDNA microarray (cDNA マイクロアレイを用いた食道癌における遺伝子発現プロファイル)
論文調査委員	(主 査) 教 授 小 川 修 教 授 藤 田 潤 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

(緒言)

食道癌患者の予後に様々な遺伝子の発現が関与すると考えられている。申請者は、食道癌患者の治療法選択、予後判定、分子生物学的分類などを目的に、食道癌の遺伝子発現を cDNA マイクロアレイで解析した。

(材料と方法)

食道扁平上皮癌細胞株 (SCCs) (KYSE seies) 10株, 食道腺癌細胞株 (ACs) (SKGT-4, TE7, KYAE, OE-33) 4株, 食道癌切除組織 (CTs) 8例を用いた。癌細胞株 (CCLs) には正常食道上皮細胞株を対象とし、癌組織には正常食道組織を対象とした。DNA チップは Human Cancer Chip ver. 2.0 (TaKaRa) を用いた。抽出した mRNA 1μg をそれぞれ Cy3, Cy5 で蛍光標識して cDNA を作製し、プレパラート上で Hybridization した。Scanner は Affymetix Array Scanner 428, 解析は ImaGene 3.0 (BioDiscovery), Cluster, Tree View (Stanford 大学) を使用した。

(結果)

(1) クラスタリング解析により, SCCs と ACs は遺伝子発現プロファイルが明らかに異なっていた。特に OE-33 と KYAE は遺伝子発現において共通するプロファイルが多くみられた。一方, SKGT-4 と TE7 は KYSE seies の近傍にクラスタリングされ, 食道腺癌でありながら食道扁平上皮癌と共通の遺伝子発現を多く持つことが明らかとなった。

(2) CTs では全ての遺伝子発現プロファイルを解析に用いると, クラスタリングによって予後分類はできなかった。しかし, 統計学的に発現差のある遺伝子を23個抽出し, 再度クラスタリングを行ったところ, 予後分類が可能であった。さらに予後の判明している新たな1例を加えたところ, 予測されたカテゴリーに分類された。抽出された23個の遺伝子の内, 細胞周期関連遺伝子 (PCNA, cdc25c, cdk10) と増殖因子関連遺伝子 (HGF receptor, FGF2) が予後不良群で高発現を示した。

(3) SCCs と ACs において発現に差のある遺伝子と, CCLs と CTs において発現に差のある遺伝子があった。特に, 食道癌組織は食道癌細胞株に比較して, MMPs や plasminogen activator などの細胞外マトリックス分解酵素関連遺伝子の発現が著明に亢進していた。

(4) PPAR- γ の発現において, マイクロアレイで得られた遺伝子発現と LightCycler による半定量 PCR に相関があった。

(結論)

(1) SCCs と ACs, CCLs と CTs は, 増殖因子, 細胞周期, 接着因子, 細胞骨格因子, アポトーシス関連因子において異なる遺伝子発現プロファイルであることが明らかになった。

(2) 食道癌の遺伝子発現プロファイルを用いた clustering により予後解析の可能性が示唆された。マイクロアレイによる遺伝子発現解析は治療法選択, 予後判定, 分子生物学的分類などに有用であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

食道癌の発生と進展に関与する様々な遺伝子が研究されている。申請者は食道癌における分子生物学的分類や予後判定を目的として、食道扁平上皮癌細胞株（SCCs）10株、食道腺癌細胞株（ACs）4株、食道癌切除組織8例についてマイクロアレイ（Human cancer chip ver. 2.0, TaKaRa, 約420遺伝子）による遺伝子発現プロファイル解析を行った。（結果）(1) SCCsは類似性の高い遺伝子発現プロファイルを示し、ACsはSCCsと比較的類似したプロファイルを示すものと著明に異なるものがあった。(2)食道癌切除組織において統計学的に有意に発現に差のある遺伝子23個を用いたクラスタリングにより予後分類が可能で、予後の判明している新たな1例も予測されたカテゴリーに分類された。細胞周期関連遺伝子（PCNA, CDC25C, CDK10）と増殖因子関連遺伝子（HGFR, FGF 2, ILGF-1R）が予後不良群において高発現していた。(3)食道癌切除組織は食道癌細胞株に比較して、細胞外基質分解酵素関連因子（MMPs, PA）や細胞外基質（collagens）の発現が亢進していた。（結論）マイクロアレイによる遺伝子発現解析は食道癌における分子生物学的分類に有用であり、予後判定にも応用が期待された。

以上の研究は、食道癌の遺伝子発現の解明に貢献し、予後判定、分子生物学的分類などに寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年2月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。