

京都大学	博士（医学）	氏 名	白畑 充章
論文題目	Gene Expression-Based Molecular Diagnostic System for Malignant Gliomas Is Superior to Histological Diagnosis (遺伝子発現に基づく悪性神経膠腫分子診断システムは組織診断より優れている)		
(論文内容の要旨)			
【背景と目的】 glioblastoma(GB)とanaplastic oligodendroglioma(AO)はともに悪性神経膠腫に分類されるが、両者の生存期間中央値には数年の違いがありGBは予後不良である。病理診断は概ね両者を識別するが、非典型的な病理像を有し診断に難渋する症例も少なくないことから、的確な診断を行うことは臨床上の課題の一つとなっている。近年マイクロアレイを用いてがん組織の大規模な遺伝子発現情報を取得し、遺伝子発現プロファイル解析によって癌の診断を行うことが試みられている。分子的特徴に基づく診断は形態に基づく診断よりも客観性に優れ生物学的特徴をより反映することが期待される。そこで本研究ではAOとGBの臨床的悪性度の違いを遺伝子発現プロファイル解析によって明らかにし、治療予後を反映し再現性の高いAO/GB分子診断モデルを構築することを目的とした。 【対象・方法】 典型的な病理所見と相応する臨床経過を辿ったAO12例とGB20例を対象とした。これらと別に神経膠腫12例を用いてcDNAライブラリーを作成し、ランダムにsequencing surveyを行い神経膠腫で発現を認める3012遺伝子を同定した。さらに文献検索から444遺伝子を追加し計3456遺伝子を測定対象とした。遺伝子発現レベルの測定はアダプター付加競合PCR法に基づくPCRアレイシステムを用いて行った。教師なし解析として階層的クラスター解析と主成分分析を行った。t検定とQ値を用いてAO/GB間で発現に差のある遺伝子を検定した。診断モデルの作成は、教師あり解析としてsignal to noise ratio(SNR)に基づく遺伝子選択とweighted voting 法を用い、leave-one-outcross-validation(LOOCV)にて診断性能を評価し、分類器遺伝子を決定した。診断性能の検証は、過去の文献から計50症例のAOとGBの遺伝子発現データと生存データを取得して行った。分類器遺伝子の機能についてGene ontologyデータベースに基づきfunctional enrichment analysis を行い統計学的評価をした。既知の分子予後マーカーであるMGMT遺伝子プロモーター領域のメチル化をMethylation Specific PCR法で測定し、染色体1pと19qのヘテロ接合性の喪失(LOH)をマイクロサテライトマーカー解析で測定した。 【結果】 階層的クラスター解析、主成分分析の結果、AOとGBは各々異なる遺伝子発現パターンをもつことが示唆された。Q値からは両群で発現に差のある遺伝子に偽陽性は少ないことが示唆された。作成した2クラス分類モデルはLOOCVにてSNRに基づく上位168遺伝子を用いた場合に100%(95%CI : 89.4-100)の診断精度を得た。文献から取得した遺伝子発現データに診断モデルを適用したところ、組織診断よりもよく予後を反映し、また文献内でなされた分子診断と28/29(96%)で合致した。さらにGBの中でAOに近い診断スコアであった症例は予後が良かった。Functional enrichment analysisの結果、GBで高発現であった遺伝子は浸潤能に関わる遺伝子が統計学的に有意に多く、AOで高発現であった遺伝子には神経細胞での発現が認められる遺伝子が有意に多く含まれた。 【結論】 遺伝子発現プロファイルに基づいたAO/GB診断モデルは従来の病理診断よりもよく予後を反映し、高い再現性を示した。			

（論文審査の結果の要旨） 悪性神経膠腫において anaplastic oligodendroglioma(AO)は放射線化学療法の効果が期待される腫瘍群で、治療抵抗性であるglioblastoma(GB)とは性質が異なるが、病理組織学的診断では必ずしも両者を識別できず、形態に基づく診断には限界がある。近年組織から大規模な遺伝子発現情報を取得し、遺伝子発現プロファイル解析によって癌を診断する試みが行われている。このような分子的特徴に基づく診断は、客観性に優れ、癌の生物学的特徴を反映することが期待される。 本研究ではAOとGBの性質の違いをpolymerase chain reaction(PCR)アレイを用いた遺伝子発現プロファイル解析によって明らかにし、両者を識別する分子診断モデルを構築した。本研究によって典型的な組織学的所見と臨床経過をもつAOとGBは異なる遺伝子発現像を有することが明らかになった。そこでこの違いを利用した分子診断システムを構築し、公開されている遺伝子発現データを用い、診断能を検証した結果、遺伝子発現に基づく診断は病理組織学的診断より良く予後と相関することが示された。さらにGB内においてもAOに近い診断スコアであった症例群は有意に予後が良かった。以上の研究は、治療予後を反映し、かつ再現性の高い悪性神経膠腫の分子診断システムの実用化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みとめる。なお、本学位授与申請者は、平成20年9月5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。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			