

平成20年 1月

郭 權慧 学位論文審査要旨

主 査 佐 藤 建 三
副主査 大 野 耕 策
同 井 上 幸 次

主論文

Prognosis-determinant candidate genes identified by whole genome scanning in eyes with pterygia

(翼状片眼における予後決定候補遺伝子の全ゲノムスキャンを用いた同定)

(著者：郭權慧、宮崎大、縄田信彦、富長岳史、山崎厚志、佐々木勇二、井上幸次)

平成19年8月 Investigative Ophthalmology & Visual Science 48巻 3566頁～3575頁

学 位 論 文 要 旨

Prognosis-determinant candidate genes identified by whole genome scanning in eyes with pterygia

(翼状片眼における予後決定候補遺伝子の全ゲノムスキャンを用いた同定)

翼状片は一般によくみられる眼表面疾患で、ボウマン膜の線維化と破壊を伴って結膜組織が角膜へ侵入するのが特徴であり、切除しても再発を来すことが多い。

近年、翼状片の進展に細胞外マトリックスのリモデリングや炎症性サイトカインあるいは成長因子の産生、抗アポトーシス機構が関与していることがわかってきている。そこで本研究では、再発機序及びその発症プロセスに関与する分子を網羅的に明らかにすることにより有効な治療法の開発につなげることを目的に、再発翼状片のトランスクリプトーム解析を行い、再発に重要な役割を果たす遺伝子を抽出し、同定した。

方 法

年齢、性別をマッチさせた再発及び初発翼状片組織、各3例3眼（平均71+/-2歳）を採取し、30337遺伝子の発現レベルをマイクロアレイによりプロファイリングし、解析した。遺伝子候補の抽出にはトランスクリプトームのデータマイニングの一つであるクラスタリング解析を行った。次に機能的に重要な遺伝子の探索には、サポートベクターマシン(SVM)を用い、再発を規定する最小単位の遺伝子群を抽出した。これらの発現を、32眼（初発24眼、再発8眼）の翼状片由来RNAに対するリアルタイムRT-PCRで確認した。次に、免疫組織化学染色により、再発、初発例における発現レベルを検討した。

結 果

初発例、再発例それぞれ3例ずつのマイクロアレイ解析で、初発と再発では1724個の遺伝子の発現レベルが有意に異なっていた (Mann-Whitney U test、 $P < 0.05$)。更に発現比2以上のものに限定すると184個の遺伝子が抽出された。この184個の遺伝子についてクラスタリング解析を行うと生物学的に異なる機序に関与する10個のクラスターに分類できた。また、初発例と再発例のトランスクリプトームのパターンはまったく異なっており、デンドログラムによって両者を容易に判別できた。次に、SVMを用いた解析により、periostin、tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-2、1-3-phosphoserine phosphatase homolog (PSPHL)の3つの遺伝子の組み合わせで初発と再発を100%判別することが可能であ

った。そこでこれら3つの遺伝子を用いて24例の初発例と8例の再発例を解析したところ、リアルタイムRT-PCRによってこの3遺伝子の差が確認でき、SVMでは、84.38%の精度で再発、初発を判別できた。初発例、再発例におけるこれら3遺伝子のタンパク発現の差は免疫組織化学的にも確認でき、特に再発例でのperiostinの発現が著明であった。

結 論

再発翼状片のトランスクリプトームは初発例とは全く異なったパターンを呈しており、再発を規定する遺伝子としてperiostin、TIMP-2、PSPHLの3つが抽出できた。これらの遺伝子群が、翼状片治療標的候補として重要である可能性が示唆された。