

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-11860

(P2008-11860A)

(43) 公開日 平成20年1月24日(2008.1.24)

(51) Int.C1.

C12N 15/09 (2006.01)  
C12Q 1/68 (2006.01)

F 1

C12N 15/00  
C12Q 1/68Z N A A  
A

テーマコード(参考)

4 B 0 2 4  
4 B 0 6 3

審査請求 有 請求項の数 4 O L (全 20 頁)

(21) 出願番号 特願2007-175132 (P2007-175132)  
 (22) 出願日 平成19年7月3日 (2007.7.3)  
 (31) 優先権主張番号 10-2006-0061741  
 (32) 優先日 平成18年7月3日 (2006.7.3)  
 (33) 優先権主張国 韓国 (KR)

(71) 出願人 506028096  
 カソリック ユニバーシティー インダス  
 トリー アカデミー コオペレーション  
 ファウンデーション  
 CATHOLIC UNIVERSITY  
 INDUSTRY ACADEMY C  
 OOPERATION FOUNDATI  
 ON  
 大韓民国, ソウル, セオチョーク, バン  
 ポードン 505  
 505 Banpo-Dong, Se  
 ocho-Gu, Seoul, Rep  
 ublic of Korea  
 (74) 代理人 100082418  
 弁理士 山口 朔生

最終頁に続く

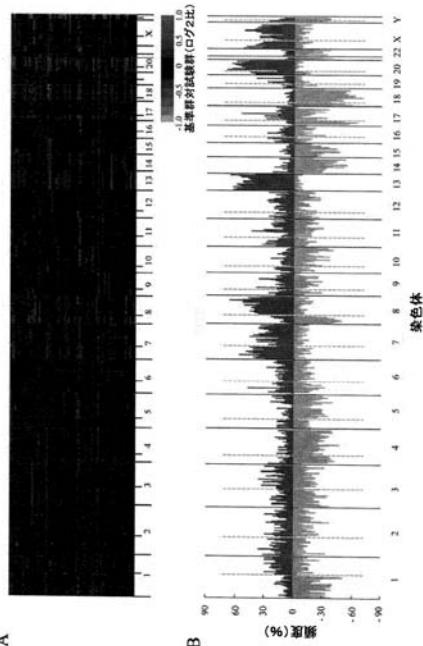
(54) 【発明の名称】大腸癌診断方法および診断キット

## (57) 【要約】

【課題】大腸癌の予後を判断する新規な診断方法および診断キット、並びにこれらに使用できる癌抑制遺伝子の提供すること。

【解決手段】(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 (R A R) を観察し、および/または(2) 前記RAR上で特定遺伝子の発現変化を測定する過程によって、大腸癌 (C R C) の予後を判定する。

【選択図】図1



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 (R A R) を観察する道具、および／または(2) 前記 R A R 上に位置する特定遺伝子の発現変化を測定する道具を含む、大腸癌 (C R C) の予後を判定する診断キット。

**【請求項 2】**

前記(1)における前記再現されるゲノム変化領域 (R A R) は、R A R - L 1 (染色体 1 p 3 6 の消失) および R A R - L 2 0 (染色体 2 1 q 2 2 の消失) の中から選択された一つ以上であることを特徴とする、請求項1に記載の診断キット。

**【請求項 3】**

前記(2)の道具は、前記 R A R 上に位置する癌抑制遺伝子 C A M T A 1 の発現減少を測定する道具であることを特徴とする、請求項1に記載の診断キット。

**【請求項 4】**

大腸癌の診断に使用できる癌抑制遺伝子 C A M T A 1。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

本発明は、新規な大腸癌診断方法および診断キットに係り、より詳しくは、(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 (R A R) を観察し、および／または(2) 前記 R A R 領域の遺伝子発現変化を測定する過程によって大腸癌 (colorectal cancer、C R C) の予後を判定する診断方法および診断キット、並びに大腸癌の診断に使用できる新規な癌抑制遺伝子 (tumor suppressor genes) に関する。

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

大腸癌 (C R C) は、2002年に大略全世界的に 100 万名の患者 (世界全体の 9.4%) が発生したものと推算されている。大腸癌は、発生率の面からみて、男性では 4 位、女性では 3 位を占める。また、大腸癌は、有病率 (prevalence) が全世界的に乳房癌の次に高く、致死率は大略発生率の半分 (2002年に約 529,000 名死亡) に達し、2.8 万名の患者が大腸癌と診断を受けて 5 年以内に生存しているものと推定される。全世界的に大腸癌の発生において少なくとも 25 倍程度の多様性が存在している。このような大腸癌の発病率は、先進国で最も高く、アフリカおよびアジアでは低い傾向がある。韓国では大腸癌が 2004 年に癌死亡原因の 4 位を占めたが、これは、男性および女性の両方ともで、年齢を基準とする大腸癌の発病率が世界平均よりさらに高いものである。このような地理的差異は、大腸癌が多因子遺伝病 (multifactorial disease) であるから、環境要因だけでなく、遺伝的背景によるものと判断される。

**【0 0 0 3】**

大腸癌の発病化過程において様々な突然変異 (multiple mutations) が蓄積されることがよく知られている。大腸癌における遺伝的不安定性は、2 つの主要形態、すなわちマイクロサテライト不安定性 (M I N ; microsatellite instability) および染色体不安定性 (C I N) に分けられる。約 13% の大腸癌でミスマッチ修復が欠乏してマイクロサテライト不安定性が誘発される一方、残り 87% の大腸癌では染色体不安定性が誘電物質の獲得と消失をもたらすと考えられる。したがって、染色体不安定性に関する研究は、潜在的な癌遺伝子 (oncogenes) および／または腫瘍抑制遺伝子を確認し、ひいては大腸癌の発病過程を解明することに役に立てる。

**【0 0 0 4】**

このような染色体不安定性を研究するために、既存の比較ゲノムハイブリダイゼーション (comparative genomic hybridization、以下「C G H」という) が、単一実験から得られた試料における多重染色体の不均衡を調べるのに用いられてきた。ところが、既存の C G H 方法は、顕微鏡的变化以外の微細な变化を正確に確認するにはその解像度が足りなかった。集められた実験証拠が、ゲノム量の変化が癌関連遺伝子の発現程度を変化させて

10

20

30

40

50

腫瘍化を誘発するという事実を提示するため、高い解像度を持つより詳細な分析が必要である。最近、既存の C G H 方法とマイクロアレイ技術とを組み合わせて、ゲノム全体の D N A コピー数の分析を高い正確度で実施し得るようになった。アレイ C G H は、癌遺伝子または腫瘍抑制遺伝子が存在するか否かのゲノム異常を探知する有用な道具として脚光を浴びている。また、アレイ C G H は、幾つかのゲノム異常が腫瘍の予後マーカーとして提示されたため、腫瘍を分子的に分類するのに使用できるとともに、治療または予防のためのターゲット遺伝子を確認するのに使用できる。

#### 【 0 0 0 5 】

本発明者らは、大腸癌におけるゲノム変化およびその臨床病理学的意味を調べるために、59名の大腸癌患者の非常に細かく切った組織から抽出されたゲノム D N A s を用いてゲノム規模のアレイ C G H を行った。その結果、大腸癌関連遺伝子のゲノムコピー数の様々な変化が新しく再現される変化領域 (recurrently altered region、以下「 R A R 」という) と共に観察され、アレイ C G H によって発見される遺伝的変化と臨床病理学的変数間の連関性を調べることができた。

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【 0 0 0 6 】

そこで、本発明者らは、新規な大腸癌診断法を開発するために鋭意努力を続けた結果、大腸癌で再現される変化領域 ( R A R ) 27個を確認し、それから得た大腸癌関連遺伝子の発現程度を測定して、否定的な予後を示す2種の遺伝子 R A R - L 1 および R A R - L 20 、並びに前記 R A R - L 1 から腫瘍抑制因子としての C A M T A 1 遺伝子を単離し、これを用いた大腸癌診断方法および診断キットを提供することにより、本発明を成功的に完成した。

#### 【 0 0 0 7 】

本発明の目的は、大腸癌の予後を判断する新規な診断方法および診断キット、並びにこれらに使用できる癌抑制遺伝子を提供することにある。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【 0 0 0 8 】

上記目的を達成するために、本発明は、(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 ( R A R ) を観察し、および / または (2) 前記 R A R 上で特定遺伝子の発現変化を測定する過程によって、大腸癌 ( C R C ) の予後を判定する診断方法を提供する。

また、本発明は、(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 ( R A R ) を観察する道具、および / または (2) 前記 R A R 上に位置する特定遺伝子の発現変化を測定する道具を含む、大腸癌 ( C R C ) の予後を判定する診断キットを提供する。

また、本発明は、大腸癌の診断に使用可能な癌抑制遺伝子を提供する。

#### 【発明の効果】

#### 【 0 0 0 9 】

上述したように、本発明は、(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 ( R A R ) を観察し、および / または (2) 前記 R A R 領域の遺伝子発現変化を測定する過程によって、大腸癌 ( colorectal cancer、 C R C ) の予後を判定する診断方法および診断キット、並びに大腸癌の診断などに使用できる新規な癌抑制遺伝子 ( tumor suppressor genes ) を提供する。本発明の診断方法は、前記 R A R 領域上で統計的に有意な癌抑制遺伝子を選択し、その発現変化を正確に観察および測定するので、大腸癌を含んだ各種癌および腫瘍の予後判断だけでなく、早期診断などが効果的に行われるよう助ける。

#### 【発明を実施するための最良の形態】

#### 【 0 0 1 0 】

以下、本発明について詳細に説明する。

本発明は、(1) 染色体上の再現されるゲノム変化領域 ( R A R ) を観察し、および / または (2) 前記 R A R 上で特定遺伝子の発現変化を測定する過程によって、大腸癌 ( C R C ) の予後を判定する診断方法を提供する。

10

20

30

40

50

前記(1)過程における再現されるゲノム変化領域(RAR)は、RAR-L1(染色体1p36の消失)およびRAR-L20(染色体21q22の消失)の中から選択された一つ以上であることが好ましい。

#### 【0011】

また、前記(2)過程の特定遺伝子は、前記RAR上に位置する癌抑制遺伝子であることが好ましく、さらに好ましくは前記RAR上に位置する癌抑制遺伝子CMTA1である。

前記癌抑制遺伝子CMTA1は、遺伝子発現が減少するとき、大腸癌を含む各種癌の否定的な予後を示し、遺伝子発現が増加するとき、大腸癌を含む各種癌の肯定的な予後を示す。

10

#### 【0012】

また、本発明は、(1)染色体上の再現されるゲノム変化領域(RAR)を観察する道具、および(2)前記RAR上に位置する特定遺伝子の発現変化を測定する道具などを含む、大腸癌(CRC)の予後を判定する診断キットを提供する。

前記(1)における再現されるゲノム変化領域(RAR)は、RAR-L1(染色体1p36の消失)およびRAR-L20(染色体21q22の消失)の中から選択された一つ以上であることが好ましい。

前記(2)の道具は、前記RAR上に位置する癌抑制遺伝子CMTA1の発現減少を測定する道具であることが好ましい。

20

また、本発明は、大腸癌を含んで各種癌の診断に使用できる癌抑制遺伝子を提供する。

前記癌抑制遺伝子は、CMTA1遺伝子を含むことが好ましい。

#### 【0013】

以下、実施例によって本発明をさらに詳細に説明する。ところが、下記実施例は本発明を例示するものに過ぎず、本発明の内容を限定するものではない。

#### 【0014】

実施例1. 大腸癌におけるゲノム変化の特徴調査

#### 【0015】

##### (1) 大腸癌患者および細胞試料の収集

#### 【0016】

本発明では、1995年から1997年の期間中に檀国大学校病院(天安、韓国)で外科手術を受けた59名の大腸癌(CRC)患者の試料を収集し、江南聖母病院研究陣の承認下に使用した。各患者から得た腫瘍および近隣正常組織は、外科的に摘出されて冷凍庫で凍らせて保管された。各組織はクリオトーム(cryotom)を用いてゼラチンコートスライド上に準備された。この組織は、H&E染色をした後、腫瘍細胞の多い領域(60%以上)と正常細胞領域とが顕微鏡の下で選別され、手作業で解剖された。顕微解剖された(microdissected)組織は、細胞溶解緩衝溶液(1%プロテアーゼKを溶かしたTE緩衝溶液)に浸漬して50度12時間反応させてゲノムDNAを抽出した。アレイCGHの対照群として、正常組織から得たDNAが使用された。単離されたDNAは、DNA単離キット(DNA purification kit、Soltgent製、韓国大田)を用いて純粋精製され、NanoDrop ND-1000スペクトロフォトメーター(NanoDrop Technologies、デラウェア、米国)を用いて定量された。腫瘍の組織病理学的所見は、癌ガイドラインに関する米国学会の標準TNM分類に基づき、訓練された病理学者によって行われた。

30

40

#### 【0017】

##### (2) アレイ比較ゲノムハイブリダイゼーションおよびデータプロセッシング

#### 【0018】

Sanger研究所のマイクロアレイ研究陣が作った全体ゲノムにおいて1Mbの解像度を持つヒトクローニングアレイを使用した。DNAラベリング、前ハイブリダイゼーション、ハイブリダイゼーション、および後ハイブリダイゼーションは下記の通りに行った。癌組織から得たゲノムDNAはCytidine-Deoxythymidineでラベルし、腫瘍組織から得たDNAはC

50

y 5 - d C T P でラベルした。オープンウェルハイブリダイゼーションは既存の方法によって行われた。アレイは GenePix 4100A スキャナ（エクソンインスツルメント社、米国）を用いてスキャンされ、イメージは GenePix Pro 6.0 を用いてプロセシングされた。アレイ CGH データは、Web 上のアレイ CGH 分析インターフェース Array CGHt を用いて正常化 (print-tip loss normalization) され、再配列された。長い挿入クローンは、ENSEMBL および UCGC ゲノムブラウザ上のゲノム位置に応じてマッピングされた。全体的に 2,981 BAC クローンが最初 3,014 クローンからプロセッシングされた。全体クローンセットに対する情報は、ENSEMBL ヒトゲノムブラウザを用いて得ることができる。

10

【0019】

(3) 染色体変化に対するデータ分析

【0020】

各クローンにおける染色体の変化に対するカットオフ値を設定するために、4つの正常ハイブリダイゼーションを別途のシリーズで行った。対照群のハイブリダイゼーション結果に基づいて、コピー数異常に対するカットオフ値は、各個人のデータにおける標準誤差の3倍内外と設定した。領域上のコピー数変化は、2以上のBACクローンに続くDNAのコピー数変化と定義し、全体染色体を対象とするのではない。各クローンにおける高い程度の増幅は、強度がログ2の値 1.0 以上、または相同消失においてはその反対と定義した。コピー数変化の範囲は、隣り合うクローン間の半分程度に定めた。RAR は、少なくとも 10 個の腫瘍試料において現れる領域上のコピー数変化によって定義した。

20

【0021】

(4) ゲノム変化の調査

【0022】

全体 59 名の大腸癌患者の臨床病理学的データは、下記表 1 に示す通りである。39 名の男子患者と 20 名の女子患者を選抜し、手術時の患者の平均年齢は 58.7 才 (23 才から 81 才まで) であると調査された。59 名の患者のうち、41 名の患者 (69.5%) は直腸癌 (rectosigmoid cancer) であり、36 名の患者 (61.0%) は初期段階の腫瘍と分類診断された。実験進行の際に、23 名の患者は死亡した（[表 1] 研究対象患者の一般的な特性）。

30

【0023】

【表1】

患者の数	59 (100 %)	
男子	39 (66.1 %)	
女子	20 (33.9 %)	
年齢層		
男子	59.2	10
女子	57.8	
< 60	31 (52.5 %)	
≥ 60	28 (47.5 %)	
段階		
初期段階(段階I 及び 段階II)	36 (61.0 %)	
進行した段階(段階III および IV)	23 (39.0 %)	20
腫瘍部位		
直腸S状部	41(69.5 %)	
その他の部位	18(30.5 %)	

## 【0024】

前記59名の大腸癌患者から発見されるゲノム変化の全ては図1に示した。染色体変化の頻度を調査した結果、これらのいずれも無作為に分布してあるものと調査されたが、全体ゲノムを介して幾つかの重要な領域(hot regions)は集中していた。59名の患者におけるアレイC G Hの信号強度比率(ログ2単位)に関するデータはWebサイトからダウンロードすることができる。

## 【0025】

各患者毎に変化したクローニンは、平均的に全体2,981個のクローニンのうち764.8個(58個~1,540個)であると測定された。変化したクローニンの数字は男子、症状が悪化したグループ、および直腸癌で有意にさらに高かった。全体染色体のうち最も頻繁な変化は13q(31/59、52.5%)、20q(30/59、50.8%)、20p(21/59、35.6%)、7p(20/59、33.9%)、および8q(29/59、49.2%)上の獲得、並びに18q(29/59、49.2%)、18p(27/59、45.8%)および17p(26/59、44.1%)上の消失であると確認された。

## 【0026】

実施例2. コピー数変化の確認

## 【0027】

本発明は、コピー数の変化を調べるために、多重ライゲーション依存性プローブ増幅分析(multiplex ligation-dependent probe amplification analysis、以下「MLPA」という)を、MLPA-Annealing Test Kit P095(MRC、オランダ)を用いて次の通りに行った。前記250ngのゲノムDNAを98で10分間変性させ、緩衝溶液含有プローブ混合液3μLを添加した。その後、反応混合液を95で1分間加

10

20

30

40

50

熱し、60で16時間反応させた。ライゲーション反応は、熱に安定なりガーゼ65を用いて54で15分間行った。10μLの反応溶液は、40μLの汎用プライマーが含まれたPCR反応混合液と混合した。一つのプライマーはそのままにして、残りのプライマーのみをFAM[N-(3-フルアンチル)マレイミド]でラベルした。熱反応は、95で1分、95で30秒を1サイクルとして35サイクル繰り返し行われ、さらに60で30秒、72で60秒間行われた。增幅された欠片は、ABI PRISM 3730XL DNA分析器(アプライドバイオシステム、米国)によって、ROX-50をサイズマーカーとして用いて分析された。PCR産物のピーク領域はGenotyperソフトウェアで算定し、データはCofffalyser macroから得た単純化した分析法を用いて分析された。

10

#### 【0028】

実際アレイCGHによってコピー数を調べるために、コピー数異常を示す13名の初期大腸癌患者を対象としてMLPA分析を行った。アレイCGHによって確認されたコピー数異常はMLPA結果とほぼ一致した。図2はMLPA確認結果を説明しており、番号が付された12個のピークはそれぞれ13番、18番、21番およびX染色体のコピー数異常を示すものである。

#### 【0029】

実施例3. 再現される変化領域の確認

#### 【0030】

全体染色体の変化に伴い、多くの領域上のコピー数変化が観察された。このような再現される変化領域(recurrently altered regions)のうち、少なくとも10名の患者における染色体の再現される変化領域はRARと命名し、具体的には7個のRAR獲得(RAR-G)および20個のRAR消失(RAR-L)が観察された。下記表2に、27個のRARsのマップ上の位置、大きさおよび癌関連遺伝子を羅列して示している。これらのうち5個のRARsは40%以上の患者から観察された: RAR-G4(28/59, 47.5%)、RAR-L2(27/59, 45.8%)、RAR-L5(25/59, 42.2%)、RAR-L14(28/59, 47.5%)およびRAR-L17(28/59, 47.5%)([表2]59名の大腸癌患者における再現される変化領域)。

20

#### 【0031】

【表2】

変化領域	BACクローンID	Cytoband	バウンダリー(Mb)	サイズ(Mb)	頻度	推定癌関連遺伝子	
獲得	RAR-G1	RP11-440P5-RP11-373L24	2p16.1-p15	59.90-61.92	2.01	15/59	<i>BCL11A, REL</i>
	RAR-G2	RP11-163H6-RP11-484D16	3q26.2-q26.32	172.14-178.64	6.49	12/59	<i>PLDI, ECT2</i>
	RAR-G3	RP11-196O16-RP11-486P11	7p21.1	15.35-20.32	4.97	21/59	<i>AGR2, TWIST1</i>
	RAR-G4	RP11-495D4-RP11-17E16	8q24.13-q24.21	126.22-131.11	4.88	28/59	<i>MTC</i>
	RAR-G5	RP11-121C18-RP11-34N19	11p15.1-p14.3	20.97-23.47	2.49	11/59	
	RAR-G6	RP11-31I23-RP1-68D18	11p13	34.47-35.49	1.01	19/59	<i>CD44</i>
	RAR-G7	RP3-404F18-RP3-394F12	Xq24-q25	117.92-125.02	7.10	21/59	<i>BIRC4</i>
消失	RAR-L1	RP3-438L4-RP11-338N10	1p36.31-p36.23	6.52-8.43	1.90	15/59	<i>CAMTA1</i>
	RAR-L2	RP11-428D12-RP1-86A18	1p33-p32.3	48.50-51.17	2.66	27/59	<i>FAF1</i>
	RAR-L3	RP5-944F13-RP11-175G14	1p31.1	69.56-72.27	2.70	15/59	<i>CTH, PTGER3</i>
	RAR-L4	RP5-963M5-RP4-739M21	1p31.1	76.26-77.47	1.20	23/59	
	RAR-L5	RP11-22A3-RP11-446J8	4p15.33-p15.32	12.05-17.17	5.11	25/59	
	RAR-L6	RP11-100N21-RP11-415L23	4p12	46.67-48.32	1.65	19/59	<i>TEC</i>
	RAR-L7	RP11-87F15-RP11-347K3	4q34.1-q26.33	177.12-189.92	12.79	10/59	<i>CLDN22, IRF2, ING2, CASP3</i>
	RAR-L8	CTD-2011L22-RP11-200I3	5q14.3-q15	91.52-93.36	1.83	12/59	
	RAR-L9	RP11-391B7-CTC-279E3	5q33.3-q34	157.36-160.78	3.41	12/59	
	RAR-L10	RP3-365E2-RP1-13D10	6p23-p22.3	13.97-17.02	3.04	19/59	
	RAR-L11	RP11-338B22-RP11-16H11	8p23.3-p23.2	0.46-4.49	4.02	23/59	
	RAR-L12	RP11-325D15-RP11-619F23	10q22.2-q22.3	77.33-79.26	1.91	13/59	
	RAR-L13	RP11-381K7-RP11-426E5	10q25.2	112.7-114.46	1.75	12/59	<i>ACSL5</i>
	RAR-L14	RP11-164H13-RP11-76E12	14q32.13-q32.2	95.13-97.53	2.40	28/59	
	RAR-L15	RP11-353B9-RP11-105D1	15q21.1-q21.2	47.35-49.35	1.99	17/59	
	RAR-L16	RP11-231A23-RP11-24N10	15q22.2-q22.31	57.44-61.74	4.29	21/59	<i>ANXA2, ROR4</i>
	RAR-L17	RP11-401O9-RP11-219A15	17p13.1-p11.2	9.83-17.02	7.18	28/59	<i>SCO1</i>
	RAR-L18	RP5-836L9-RP11-121A13	17p11.2	19.88-22.34	0.35	23/59	
	RAR-L19	RP1-270M7-RP1-152M24	21q11.2-q21.1	15.21-16.83	1.61	18/59	
	RAR-L20	RP11-98O13-RP5-1031P17	21q22.13-q22.2	37.50-40.67	3.16	13/59	

## 【0032】

前記 R A R s には幾つかの癌関連遺伝子が含まれる。たとえば、B L C 1 1 A、P L D 1、E C T 2、A G R 2、T W I S T 1 および B I R C 4 などの癌遺伝子(oncogenes)だけでなく、M Y C および R E L などの既存の癌遺伝子が前記 R A R - G s に含まれる。また、C A M T A 1、F A F 1、C T H、P T G E R 3、T E C、C L D N 2 2、I N G 2、I R F 2、A C S L 5、A N X A 2、R O R A および S C O 1 などの多くの癌抑制遺伝子が前記 R A R - L s に位置している。

## 【0033】

実施例4. 高いコピー数への変化

## 【0034】

R A R s に位置する癌関連遺伝子と共に高い程度の増幅および相同削除(homozygous deletion)を表3にまとめて示した( [表3] 大腸癌患者における高いコピー数変化を示す遺伝的位置)。

## 【0035】

【表3】

変化	BACクローンID	Cytoband	バウンダリー (Mb)	サイズ (Mb)	観察されたケース	推定癌関連遺伝子	
Amp	RP11-449G3-RP4-725G10	7p12.1-p11.2	53.47-56.26	2.78	CCRC93	EGFR	
	RP4-550A13-RP11-506M12	7q22.1	97.86-99.59	1.72	CCRC29	MCM7	
	RP11-90J7-RP11-20E23	10q22.3-q23.1	79.26-83.53	4.27	CCRC37		
	RP5-1096D14-RP11-319E16	12p13.33-p13.31	1.43-5.57	4.13	CCRC33	CCND2, FGF6, FGF23, AKAP3	
	RP11-129M14-RP11-332E3	13q21.31-q22.2	64.90-75.98	11.07	CCRC59	KLF5	
	RP11-564N10-RP11-255P5	13q33.1	100.86-102.84	1.97	CCRC72	FGF14	
	RP11-265C7-RP11-245B11	13q34	112.49-113.85	1.35	CCRC19	CUL4A, TFDPI, PPARBP, PPP1RIB, STARD3, TCAP, PNMT, ERBB2, GRB7, CDC6, RARA	10
	RP11-390P24-RP11-94L15	17q12-q21.2	34.71-35.45	0.73	CCRC17, 81		
	RP11-13L22-RP11-28F1	18q21.33	57.72-59.73	2	CCRC80	ID1, BCL2L1, HCK, TPX2, MYLK2, PLAGL2, TGIF2, SRC	
	RP3-324O17-RP4-633O20	20q11.21-q11.23	28.92-36.34	7.41	CCRC12, 90, 93		
HD	RP5-1028D15-RP4-719C8	20q13.12-q13.33	41.66-58.31	16.64	CCRC 11, 43, 72, 90, 93	MYBL2, RAB22A	
	RP11-350K6-RP11-520K18	18q21.31-q21.33	54.78-57.70	2.91	CCRC73	PMAIP1/NOX4	20
	RP11-25L3-RP11-396D4	18q22.3-q23	69.26-71.83	2.56	CCRC73	-	

## 【0036】

増幅された11個のゲノム分節と2個の同種削除は少なくとも1名の患者から確認された。最も高いコピー数変化は1名の患者から観察されたが、17q12、20q11および20q13上の増幅は2名以上の患者から観察された。前記増幅領域ではEGFR、CCND2、ERBB2およびMYBL2などの基地の癌遺伝子が位置し、且つ幾つかの癌関連遺伝子における高いコピー数の変化領域に含まれていた（表3参照）。

## 【0037】

## 実施例5. ゲノム変化間の相関性調査

30

## 【0038】

RARs間の連関性分析は、これらの相互発生率の有意性を調査することにより行われた。互いに異なる染色体領域上の可能なすべてのRARs間の対が考慮された。RARs間の5対が、多重テスト(multiple testing)で最適化させた結果、お互い有意に連関しているものと調査された。具体的に、染色体4p15上のRAR-L5は染色体1p33上のRAR-L2および染色体Xq24上のRAR-G7と相互連関しており、染色体17p13上のRAR-L17は染色体4p15上のRAR-L5および染色体14q32上のRAR-L14と相互連関しており、染色体4p12上のRAR-L6は染色体1p33上のRAR-L2と相互連関していることが分かった。

また、有意に相互連関しているRARsが、機能的に連関している遺伝子を共有するか否かを、遺伝子データベースGO(Gene Ontology)を用いて調査した。また、同一の機能的表示を持つが、2つの連関しているRARs上に別途に位置する遺伝子を選別した。また、3つのRAR対が、12個の表示によって、機能的に連関している遺伝子を共有するものと確認された（[表4]共通のRARsが共有する機能的に連関している遺伝子）。

## 【0039】

40

【表4】

経路	RefSeq	シンボル	RAR-G7	RAR-L5	RAR-L17	RAR-L14
			0.0428			
		調整されたp値		0.0073		
					0.0022	
受容活性	NM_000623	BDKRB2				1
	NM_000676	ADORA2B			1	
	NM_000710	BDKRB1				1
	NM_001775	CD38		1		
	NM_006667	PGRMC1	1			
	NM_012452	TNFRSF13B			1	
転写の調節, DNA依存性	NM_001189	BAPX1		1		
	NM_006777	ZBTB33	1			
	NM_017544	NKRF	1			
	NM_020653	ZNF287			1	
	NM_020787	ZNF624			1	
	NM_032498	PEPP-2		1		
	NM_144680	ZNF18			1	
転写調節因子活性	NM_153604	MYOCD			1	
	NM_001189	BAPX1		1		
	NM_006470	TRIM16			1	
	NM_020653	ZNF287			1	
	NM_032498	PEPP-2	1			
知覚	NM_144680	ZNF18			1	
	NM_000623	BDKRB2				1
	NM_006017	PROM1		1		
	NM_016113	TRPV2			1	
シグナル変換	NM_000676	ADORA2B			1	
	NM_000710	BDKRB1				1
	NM_001775	CD38		1		
	NM_003010	MAP2K4			1	
	NM_005130	FGFBP1		1		
	NM_016084	RASD1			1	
展開	NM_001290	LDB2		1		
	NM_004334	BST1		1		
	NM_006978	RNF113A	1			
ATP結合	NM_002470	MYH3			1	
	NM_002472	MYH8			1	
	NM_003010	MAP2K4			1	
	NM_003384	VRK1				1
	NM_003802	MYH13			1	
	NM_005963	MYH1			1	
	NM_017533	MYH4			1	
	NM_017534	MYH2			1	
前駆体代謝産物およびエネルギー発生	NM_001775	CD38		1		
	NM_004541	NDUFA1	1			
加水分解酵素活性	NM_001775	CD38		1		
	NM_004278	PIGL			1	
	NM_004334	BST1		1		
タンパク質アミノ酸リン酸化反応	NM_003010	MAP2K4		1		
	NM_003384	VRK1			1	
Gタンパク質結合受容体タンパク質シグナル経路	NM_000623	BDKRB2			1	
	NM_000676	ADORA2B			1	
	NM_000710	BDKRB1				1
	NM_016084	RASD1			1	
転写	NM_020653	ZNF287			1	
	NM_032632	PAPOLA				1

10

20

30

40

## 【0040】

実施例6. 臨床病理学的変数による遺伝的变化の差別化された分布調査

## 【0041】

4種の臨床的変数（年齢、段階、性別、腫瘍位置）が予め確認されたゲノム変化との相互関係性を調査するために分析された。RAR-G7、RAR-L11、RAR-L12、RAR-L13、RAR-L16、RAR-L17およびRAR-L18、染色体8q、19pおよびXの獲得、並びに14q、15q、XqおよびYの消失が性別と連関している。RAR-G3、RAR-L1、RAR-L2、RAR-L5、RAR-L6およびRAR-L20、並びに染色体1pおよび4pの獲得が癌進行段階と連関しているものと

50

調査された。R A R - G 7、R A R - L 4、R A R - L 9、R A R - L 1 1 およびR A R - L 1 2、染色体13q、20pおよび20qの獲得、並びに18pおよび18qの消失が直腸癌部位と連関している。

【0042】

実施例7.ゲノム変化による生存率の分析

【0043】

臨床病理学的変数およびR A R sの予後診断価値を評価するために、生存率の分析が行われた。癌進行段階、R A R - L 1、R A R - L 4 およびR A R - L 2 0 は低い生存率と有意に関連している(図3参照)。特に、R A R - L 1 の存在は統計的に最も高い有意性を持つものと観察された。

前記分析で調査された有意なゲノム変化と共に、年齢、性別および腫瘍進行段階などの臨床的変数を用いて、2つのR A R s (R A R - L 1 およびR A R - L 2 0 )、年齢および段階が大腸癌の悪い予後を示す独立的予測因子になれるこことを確認させてくれた(【表5】 Cox回帰分析結果)。図3は患者の生存率と有意に連関している2個のR A R sを示す。

【0044】

【表5】

変数	危険率	95%信頼区間		p値
		下部	上部	
年齢	9.979	2.688	37.050	0.001
段階	5.073	1.880	13.689	0.001
RAR-L1	8.151	2.167	30.657	0.002
RAR-L20	3.528	1.098	11.339	0.034

変数	危険率	95%信頼区間		p値
		下部	上部	
年齢	6.455	2.034	20.488	0.002
段階	7.409	2.481	22.124	0.000
低いCAMTA1	7.089	2.121	23.688	0.001

【0045】

実施例8.生存率と連関したR A R sにおける癌遺伝子の発現調査

【0046】

(1) 実時間定量的重合酵素連鎖反応の分析

【0047】

1本鎖のcDNAが、44対の癌/正常組織および3つの細胞株(R K O、H T 2 9 およびH C T 1 1 6)から得た全体RNAからM - M L V逆転写酵素(Invitrogen、カナダ)を用いて合成された。本発明のC A M T A 1 遺伝子の発現プロファイルを分析するために、実時間定量的PCRがM x 3 0 0 0 P q P C RシステムおよびM x P r oバーション3.0ソフトウェア(Stratagene、米国)を用いて行われた。20μLの実時間PCR反応混合液は10ng cDNA、1X SYBR Green T b r ポリメラーゼ組み合わせ(F I N N Z Y M E S、フィンランド)、0.5X R O X および20pmol e プライマーを含むように構成された。G A P D H 遺伝子は、各実験過程で内部対照群として使用された。熱反応は、95℃で10分、94℃で10秒を1サイクルとして40サイクル繰り返し行われ、さらに54℃で30秒、72℃で30秒間行われた。特定部位の増幅を確認するために、融点分析が55~95℃で0.5℃/秒で行われ

10

20

30

40

50

た。比較定量は C T 方法で行われ、癌組織における C A M T A 1 遺伝子の発現が 40 % 減少すると低い発現と判断した。全実験は 2 回繰り返し行われた。これにより、標準誤差内強度の平均値が各患者に対して測定された。この際、使用した C A M T A 1 遺伝子のプライマーは配列番号 1 および配列番号 2 の塩基配列をそれぞれ含むように製作された。

## 【 0 0 4 8 】

## ( 2 ) C A M T A 1 遺伝子の突然変異分析

## 【 0 0 4 9 】

C A M T A 1 遺伝子の体細胞突然変異は、P C R - d i r e c t 塩基配列決定法によって検索された。特定なエクソンの増幅に対するプライマーセットは、若干変形させた既存の方法と同一に製作された。プライマー配列に対する詳細な情報は下記表 6 に示す通りである（[表 6] プライマー配列）。全ての増幅過程は P h u s i o n H i g h - F i d e l i t y D N A ポリメラーゼ（F I N N Z Y M E S、フィンランド）を用いて行われ、P C R 産物はM E G A - s p i n ゲル抽出キット（i N t R O N、韓国）を用いて純粋分離された。

## 【 0 0 5 0 】

## 【 表 6 】

	順方向プライマ	逆方向プライマ
Exon1	CCACTAGGAAGCTTTGTTAGGT	CTCTTACCTTCCGGCTTGTT
Exon2	TTGGCAGGAATATCACAGAAGAG	TTTGCTACCCAGAAGGATTA
Exon3	GGAGATTTATCTATTATTTCTCTA	GGACTATGTGAAGCAACCTAA
Exon4	AACAGCAAAAACCTTCTACCTCTC	CCAAATCAGGTAAATCAATGCA
Exon5	TTTCTTCTACTTGGTACTCTTGGTA	AATGACATTTGTGCACCAAGG
Exon6	CCCTCTTCCAATGAATTCTC	CCAGAGACAGAAGAAGAATCC
Exon7	AGTCTGCTAATATCCCACATGCGC	TGGTTGATGCCAGCCTGGTTC
Exon9	CCAGCACCATGGCCTACATGC	CAGCGGCGGCAGCTTACCTCT
Exon10	AACTCTGTTCCCTCTCTGTTCTCT	CAGGCCATCACACTCACCTTG
Exon11	CATTAAGGAGAGCTGGACATTA	ACGACCCAAGCACTGTTCTTA
Exon13	GTGGTATGCGAGAAGATGATG	CAGTGCTCAGGAAGAATGTGA
Exon14	TACCCAGTTGGTTCATCTTGGTG	ATGCCAGACTGGAAGAACAGCAAG
Exon15-1	GGTCTTGACCTCTGATTGAGA	CTCTGCTAATTCACATGACC
Exon15-2	ATCTCGATTCCGACTCTCTAG	ATAACAGTGACTCCCTGGGT
Exon19	AAGCTGACATTCTGGTAGTTAAC	TTTAGCCAAACCAGGATCTC
Exon20	TTCTCTTCTTCCCTCCGGTA	AAGTCAGAGTTCTTCCCTAGGG

## 【 0 0 5 1 】

その結果、前記 R A R - 1 1 および前記 R A R - 2 0 遺伝子のコーディング領域のうち、C A M T A 1 遺伝子は神経性腫瘍の腫瘍抑止遺伝子として提示されたことがあった。したがって、3つの大腸癌細胞株および44対の初期大腸癌において、この遺伝子の発現プロファイルを実時間定量的 P C R (real-time quantitative PCR)によって調査した。これにより、遺伝子発現数値間の比率（癌：正常）が測定された。3つの細胞株および26個の大腸癌が正常組織に比べて C A M T A 1 遺伝子の低い発現を示した（図4参照）。特に C A M T A 1 遺伝子の低い発現は正常 C A M T A 1 遺伝子に比べて低い生存率と有意に連関している。C o x 回帰分析によって、年齢、性別および段階に応じて最適化させた後に、C A M T A 1 遺伝子の低い発現が独立的予測因子として低い生存率とさらに有意に連関していることが分かった（表5参照）。

10

20

30

40

50

## 【0052】

また、C A M T A 1 遺伝子の低い発現は、R A R - L 1 がない場合（70%、7/10）よりR A R - L 1を持つ大腸癌（55.9%、19/34）からさらに頻繁に観察された。また、発現水準も、R A R - L 1を持つ大腸癌において有意性はないがさらに低いものと確認された。また、C A M T A 1 遺伝子の低い発現のメカニズムを調べるために、体細胞突然変異（26個の大腸癌）およびメチル化の度合い（38個の大腸癌）が検索された。1個のミスセンス突然変異が初期大腸癌（C C R C 7 1）から発見され、これによりR A R - L 1 がないC A M T A 1 遺伝子の低い発現が誘発されることが分かった（図4参照）。ところが、C A M T A 1 遺伝子のプロモータ領域からは過メチル化(hypermethylation)が観察されていない。

10

## 【0053】

## [参考文献]

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. CA Cancer J Clin 2005;55:74-108.
2. National Statistical Office, Korea. Korean Statistical Information System. 2006. Available from: URL: <http://www.ncc.re.kr>.
3. Shin HR, Won YJ, Jung KW, Kong HJ, Yim SH, Lee JK, Noh HI, Lee JK, Park JG. Nationwide Cancer Incidence in Korea, 1999-2001; First result using the National Cancer Incidence Database. Cancer Res Treat 2006;37:in press.
4. Michor F, Iwasa Y, Lengauer C, Nowak MA. Dynamics of colorectal cancer. Sem in Cancer Biol 2005;15:484-493.
5. Yim SH, Chung YJ. Current Status and Future Clinical Applications of Array based Comparative Genomic Hybridization. Genomics & Informatics 2004;2:113-120.
6. Pinkel D, Segraves R, Sudar D, Clark S, Poole I, Kowbel D, Collins C, Kuo W L, Chen C, Zhai Y, Dairkee SH, Ljung BM, Gray JW, Albertson DG. High resolution analysis of DNA copy number variation using comparative genomic hybridization to microarrays. Nat Genet 1998;20:207-211.
7. Fiegler H, Carr P, Douglas EJ, Burford DC, Hunt S, Scott CE, Smith J, Vetrie D, Gorman P, Tomlinson IP, Carter NP. DNA microarrays for comparative genomic hybridization based on DOP-PCR amplification of BAC and PAC clones. Genes Chromosomes Cancer 2003;36:361-374.
8. Kim TM, Yim SH, Lee JS, Kwon MS, Ryu JW, Kang HM, Fiegler H, Carter NP, Chung YJ. Genome-wide screening of genomic alterations and their clinicopathologic implications in non-small cell lung cancers. Clin Cancer Res 2005;11:8235-8242.
9. Chung YJ, Jonkers J, Kitson H, Fiegler H, Humphray S, Scott C, Hunt S, Yu Y, Nishijima I, Velds A, Holstege H, Carter N, Bradley A. A whole-genome mouse BAC microarray with 1-Mb resolution for analysis of DNA copy number changes by array comparative genomic hybridization. Genome Res 2004;14:188-196.
10. Kim SY, Nam SW, Lee SH, Park WS, Yoo NJ, Lee JY, Chung YJ. ArrayCyGHT: a web application for analysis and visualization of array-CGH data. Bioinformatics 2005;21:2554-2555.
11. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods 2001;25:402-408.
12. Henrich KO, Fischer M, Mertens D, Benner A, Wiedemeyer R, Brors B, Oberthuer A, Berthold F, Wei JS, Khan J, Schwab M, Westermann F. Reduced expression of CAMTA1 correlates with adverse outcome in neuroblastoma patients. Clin Cancer Res 2006;12:131-138.
13. Barbashina V, Salazar P, Holland EC, Rosenblum MK, Ladanyi M. Allelic losses at 1p36 and 19q13 in gliomas: correlation with histologic classification, def

20

30

40

50

initiation of a 150-kb minimal deleted region on 1p36, and evaluation of CAMTA1 as a candidate tumor suppressor gene. *Clin Cancer Res* 2005;11:1119-1128.

14. Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G. Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res* 2002;30:e57.

15. He QJ, Zeng WF, Sham JS, Xie D, Yang XW, Lin HL, Zhan WH, Lin F, Zeng SD, Nie D, Ma LF, Li CJ, Lu S, Guan XY. Recurrent genetic alterations in 26 colorectal carcinomas and 21 adenomas from Chinese patients. *Cancer Genet Cytogenet* 2003; 144:112-118.

16. Poeaim S, Rerkamnuaychoke B, Jesdapatarakul S, Campiranon A. Chromosome alterations in colorectal cancer in Thai patients. *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 160:152-159. 10

17. Ried T, Knutzen R, Steinbeck R, Blegen H, Schrock E, Heselmeyer K, du Manoir S, Auer G. Comparative genomic hybridization reveals a specific pattern of chromosomal gains and losses during the genesis of colorectal tumors. *Genes Chromosomes Cancer* 1996;15:234-245.

18. Nakao K, Mehta KR, Fridlyand J, Moore DH, Jain AN, Lafuente A, Wiencke JW, Terdiman JP, Waldman FM. High-resolution analysis of DNA copy number alterations in colorectal cancer by array-based comparative genomic hybridization. *Carcinogenesis* 2004;25:1345-1357. 20

19. Knosel T, Petersen S, Schwabe H, Schluns K, Stein U, Schlag PM, Dietel M, Petersen I. Incidence of chromosomal imbalances in advanced colorectal carcinomas and their metastases. *Virchows Arch* 2002;440:187-194.

20. Jones AM, Douglas EJ, Halford SE, Fiegler H, Gorman PA, Roylance RR, Carter NP, Tomlinson IP. Array-CGH analysis of microsatellite-stable, near-diploid bowel cancers and comparison with other types of colorectal carcinoma. *Oncogene* 2005;24:118-129.

21. Knosel T, Schluns K, Stein U, Schwabe H, Schlag PM, Dietel M, Petersen I. Genetic imbalances with impact on survival in colorectal cancer patients. *Histopathology* 2003;43:323-331. 30

22. Aragane H, Sakakura C, Nakanishi M, Yasuoka R, Fujita Y, Taniguchi H, Hagiwara A, Yamaguchi T, Abe T, Inazawa J, Yamagishi H. Chromosomal aberrations in colorectal cancers and liver metastases analyzed by comparative genomic hybridization. *Int J Cancer* 2001;94:623-629.

23. Douglas EJ, Fiegler H, Rowan A, Halford S, Bicknell DC, Bodmer W, Tomlinson IP, Carter NP. Array comparative genomic hybridization analysis of colorectal cancer cell lines and primary carcinomas. *Cancer Res* 2004;64:4817-4825.

24. De Angelis PM, Clausen OP, Schjolberg A, Stokke T. Chromosomal gains and losses in primary colorectal carcinomas detected by CGH and their associations with tumour DNA ploidy, genotypes and phenotypes. *Br J Cancer* 1999;80:526-535. 40

25. Shivapurkar N, Maitra A, Milchgrub S, Gazdar AF. Deletions of chromosome 4 occur early during the pathogenesis of colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2001;32:169-177.

26. Finch R, Moore HG, Lindor N, Jalal SM, Markowitz A, Suresh J, Offit K, Giillem JG. Familial adenomatous polyposis and mental retardation caused by a de novo chromosomal deletion at 5q15-q22: report of a case. *Dis Colon Rectum* 2005;48:2148-2152.

27. Flanagan JM, Healey S, Young J, Whitehall V, Trott DA, Newbold RF, Chenevix-Trench G. Mapping of a candidate colorectal cancer tumor-suppressor gene to a 900-kilobase region on the short arm of chromosome 8. *Genes Chromosomes Cancer* 2 50

004;40:247-260.

28. Frayling IM, Bodmer WF, Tomlinson IP. Allele loss in colorectal cancer at the Cowden disease/juvenile polyposis locus on 10q. *Cancer Genet Cytogenet* 1997; 97:64-69.
29. Bando T, Kato Y, Ihara Y, Yamagishi F, Tsukada K, Isobe M. Loss of heterozygosity of 14q32 in colorectal carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1999;111:161-165.
30. Park WS, Park JY, Oh RR, Yoo NJ, Lee SH, Shin MS, Lee HK, Han S, Yoon SK, Kim SY, Choi C, Kim PJ, Oh ST, Lee JY. A distinct tumor suppressor gene locus on chromosome 15q21.1 in sporadic form of colorectal cancer. *Cancer Res* 2000;60:70 10 -73.
31. Risio M, Casorzo L, Chiechino L, De Rosa G, Rossini FP. Deletions of 17p are associated with transition from early to advanced colorectal cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 2003;147:44-49.
32. Knosel T, Petersen S, Schwabe H, Schluns K, Stein U, Schlag PM, Dietel M, Petersen I. Incidence of chromosomal imbalances in advanced colorectal carcinoma s and their metastases. *Virchows Arch* 2002;440:187-194.
33. Donzelli M, Bernardi R, Negri C, Prosperi E, Padovan L, Lavialle C, Brison O, Scovassi AI. Apoptosis-prone phenotype of human colon carcinoma cells with a high level amplification of the c-myc gene. *Oncogene* 1999;18:439-448. 20
34. Lakshman M, Subramaniam V, Rubenthaler U, Jothy S. CD44 promotes resistance to apoptosis in human colon cancer cells. *Exp Mol Pathol* 2004;77:18-25.
35. Cummins JM, Kohli M, Rago C, Kinzler KW, Vogelstein B, Bunz F. X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) is a nonredundant modulator of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated apoptosis in human cancer cells. *Cancer Res* 2004;64:3006-3008.
36. Satterwhite E, Sonoki T, Willis TG, Harder L, Nowak R, Arriola EL, Liu H, Price HP, Gesk S, Steinemann D, Schlegelberger B, Oscier DG, Siebert R, Tucker P W, Dyer MJ. The BCL11 gene family: involvement of BCL11A in lymphoid malignancies. *Blood* 2001;98:3413-3420. 30
37. Ahn BH, Kim SY, Kim EH, Choi KS, Kwon TK, Lee YH, Chang JS, Kim MS, Jo YH, Min DS. Transmodulation between phospholipase D and c-Src enhances cell proliferation. *Mol Cell Biol* 2003;23:3103-3115.
38. Zhang JS, Gong A, Cheville JC, Smith DI, Young CY. AGR2, an androgen-inducible secretory protein overexpressed in prostate cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005;43:249-259.
39. Shoji Y, Takahashi M, Kitamura T, Watanabe K, Kawamori T, Maruyama T, Sugimoto Y, Negishi M, Narumiya S, Sugimura T, Wakabayashi K. Downregulation of prostaglandin E receptor subtype EP3 during colon cancer development. *Gut* 2004;53:11 40 51-1158.
40. Bjorling-Poulsen M, Seitz G, Guerra B, Issinger OG. The pro-apoptotic FAS-associated factor 1 is specifically reduced in human gastric carcinomas. *Int J Oncol* 2003;23:1015-1023.
41. Dunn JR, Risk JM, Langan JE, Marlee D, Ellis A, Campbell F, Watson AJ, Field JK. Physical and transcript map of the minimally deleted region III on 17p implicated in the early development of Barrett's oesophageal adenocarcinoma. *Oncogene* 2003;22:4134-4142.
42. Kuo T, Fisher GA. Current status of small-molecule tyrosine kinase inhibitors targeting epidermal growth factor receptor in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2005;Suppl 2:S62-70. 50

43. Gunther K, Leier J, Henning G, Dimmler A, Weissbach R, Hohenberger W, Forster R. Prediction of lymph node metastasis in colorectal carcinoma by expression of chemokine receptor CCR7. *Int J Cancer* 2005;116:726-733.
44. Aligayer H, Boyd DD, Heiss MM, Abdalla EK, Curley SA, Gallick GE. Activation of Src kinase in primary colorectal carcinoma: an indicator of poor clinical prognosis. *Cancer* 2002;94:344-351.
45. Villunger A, Michalak EM, Coultas L, Mullauer F, Bock G, Ausserlechner MJ, Adams JM, Strasser A. p53- and drug-induced apoptotic responses mediated by BH3-only proteins puma and noxa. *Science* 2003;302:1036-1038.
46. Ogunbiyi OA, Goodfellow PJ, Gagliardi G, Swanson PE, Birnbaum EH, Fleshman JW, Kodner IJ, Moley JF. Prognostic value of chromosome 1p allelic loss in colon cancer. *Gastroenterology* 1997;113:761-766. 10
47. Ray R, Cabal-Manzano R, Moser AR, Waldman T, Zipper LM, Aigner A, Byers SW, Riegel AT, Wellstein A. Up-regulation of fibroblast growth factor-binding protein, by beta-catenin during colon carcinogenesis. *Cancer Res* 2003;63:8085-8089.

【図面の簡単な説明】

【0054】

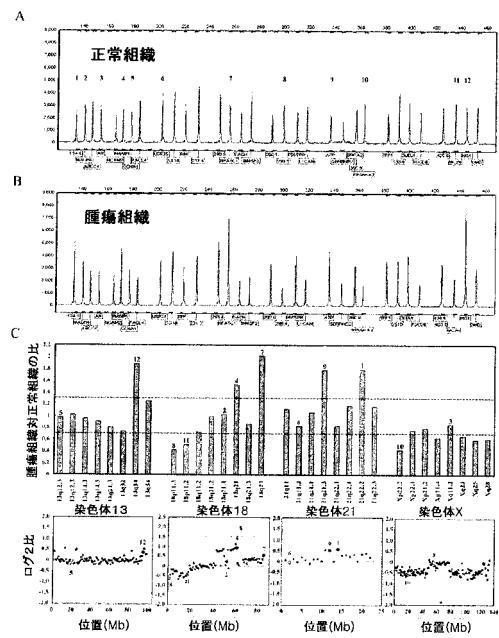
【図1】大腸癌患者のゲノムを分析した結果である（A：大腸癌患者のゲノムプロファイル、B：染色体上の獲得および消失の頻度）。

【図2】アレイCGHを用いてコピー数のプロファイルを分析した結果である（A：正常組織、B：C C R C 8 0 腫瘍組織、C：腫瘍組織対正常組織）。 20

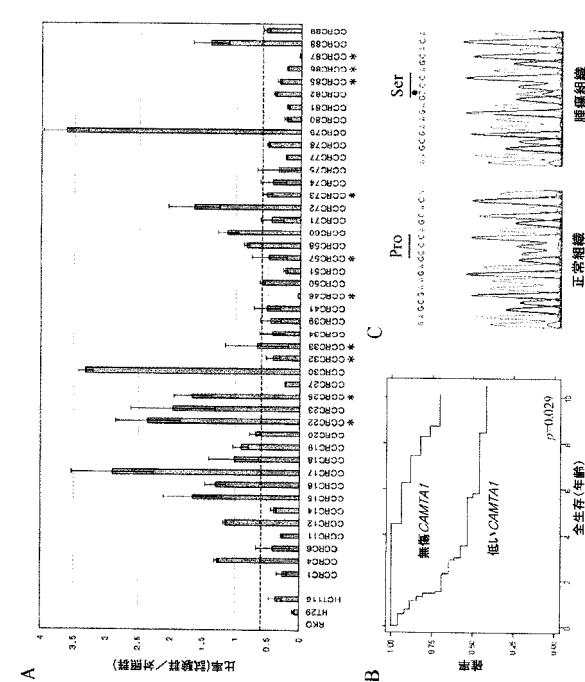
【図3】再現されるゲノム変化領域（RAR）と生存率との相関性を分析した結果である（A：段階、B：染色体1q36上のRAR-L1、C：染色体1p31上のRAR-L4、D：染色体21q22上のRAR-L20）。

【図4】本発明の癌抑制遺伝子の発現プロファイルを分析した結果である（A：腫瘍／正常強度の比率、B：カプランマイヤー生存率曲線、C：ミスセンス突然変異）。

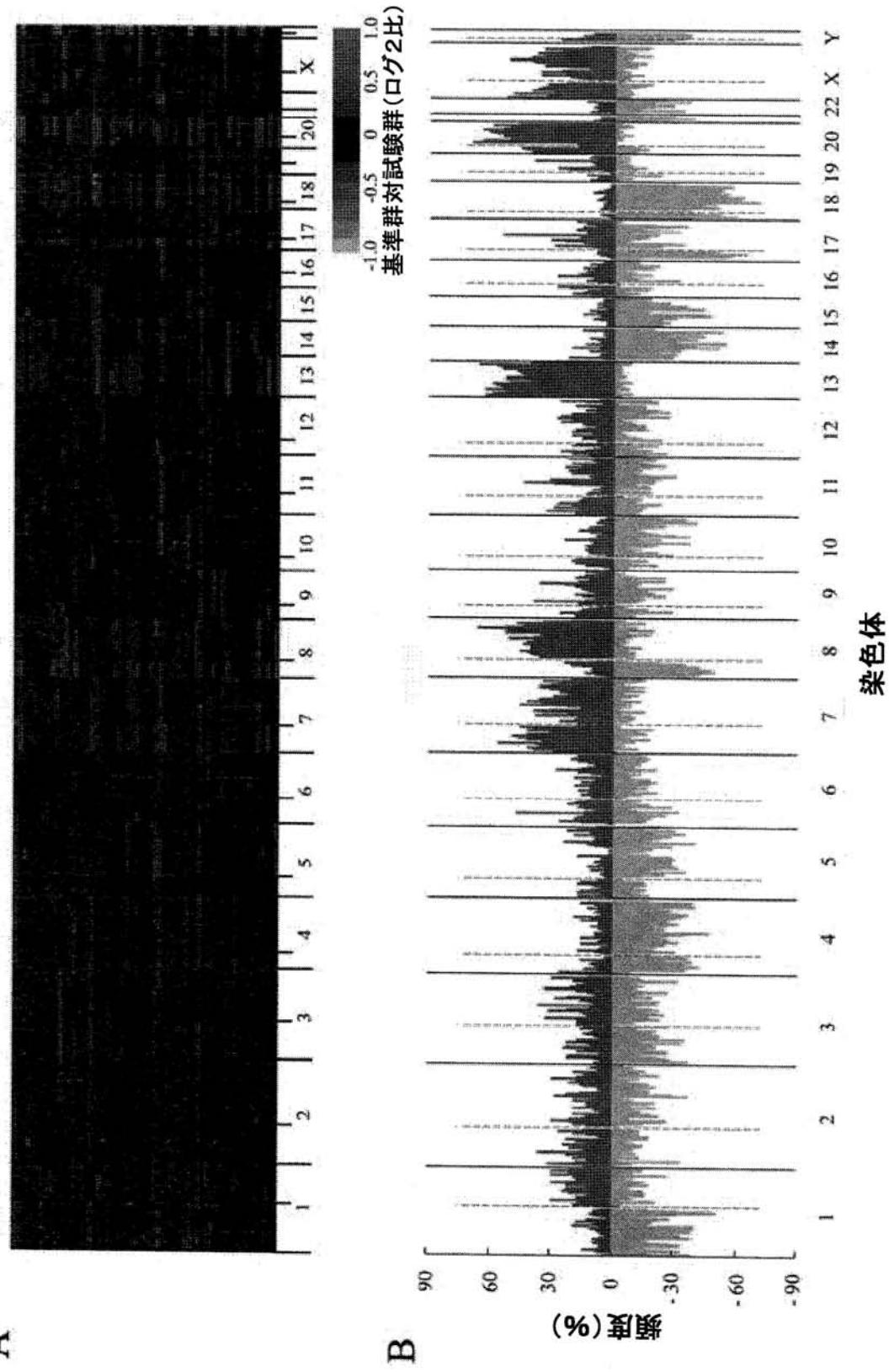
【図2】



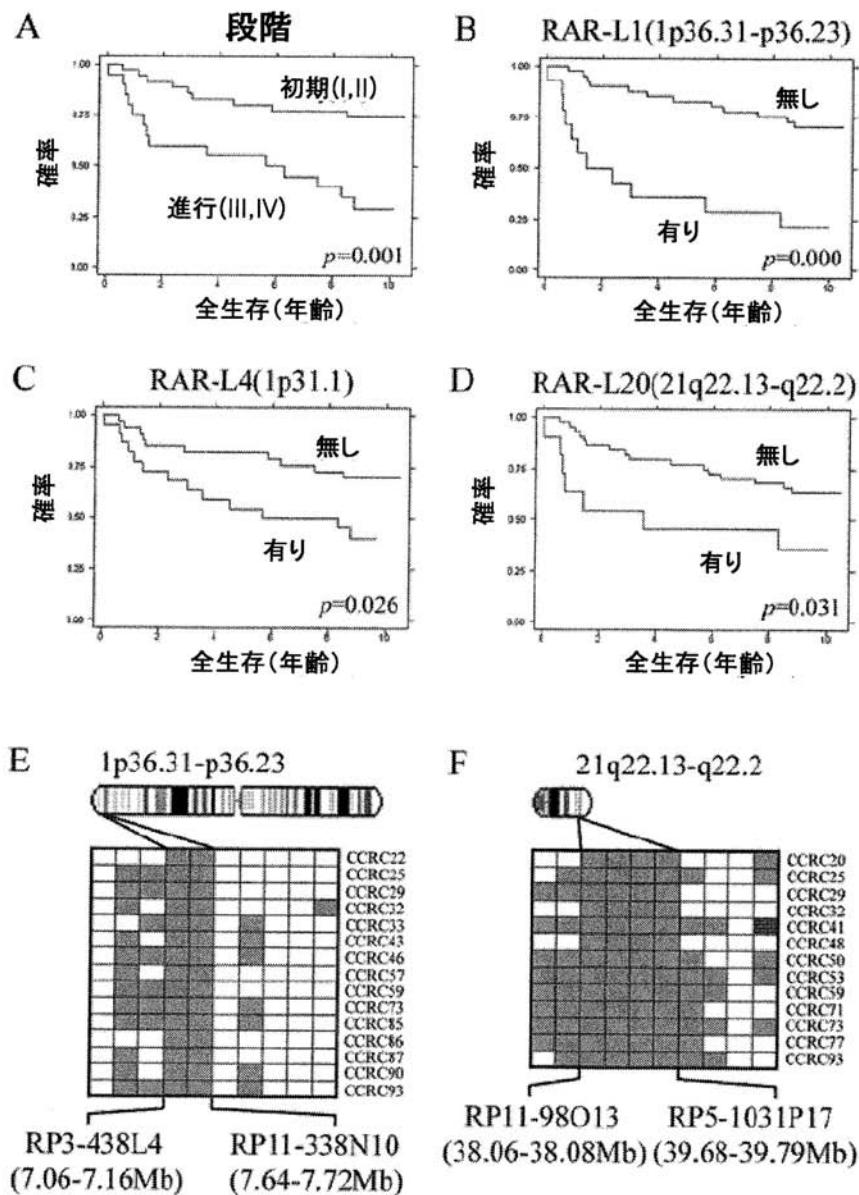
【図4】



【図1】



【図3】



---

フロントページの続き

(72)発明者 チヤン ヤン ツュン

大韓民国 ソウル セオチョ - グ ジャムウォン ドン 64 - 8 ハンシン 5 チヤ アパー  
トメント 115 - 803

F ターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA09 CA11 CA20 HA11

4B063 QA01 QA13 QA19 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR55 QR59  
QR62 QS25 QS34 QX02