(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5788863号
(P5788863)

(45)発行日　平成27年10月7日(2015.10.7)　(24)登録日　平成27年8月7日(2015.8.7)

(51)Int.Cl.		F I		
C12N 5/09	(2010.01)	C12N	5/00	202U
C12Q 1/02	(2006.01)	C12Q	1/02	
G01N 33/15	(2006.01)	G01N	33/15	Z
G01N 33/50	(2006.01)	G01N	33/50	Z
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	Y

請求項の数 36　(全 236 頁)

(21)出願番号　特願2012-502309(P2012-502309)
(86)(22)出願日　平成22年3月26日(2010.3.26)
(65)公表番号　特表2012-521769(P2012-521769A)
(43)公表日　平成24年9月20日(2012.9.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2010/028926
(87)国際公開番号　WO2010/111659
(87)国際公開日　平成22年9月30日(2010.9.30)
審査請求日　平成25年3月25日(2013.3.25)
(31)優先権主張番号　61/164,272
(32)優先日　平成21年3月27日(2009.3.27)
(33)優先権主張国　米国(US)

(73)特許権者　309040701
ワイス・エルエルシー
アメリカ合衆国１００１７ニューヨーク州
ニューヨーク市　イースト・フォーティー
セカンド・ストリート２３５
(74)代理人　100133927
弁理士　四本　能尚
(74)代理人　100137040
弁理士　宮澤　純子
(74)代理人　100147186
弁理士　佐藤　眞紀
(74)代理人　100174447
弁理士　龍田　美幸
(74)代理人　100096666
弁理士　室伏　良信

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍開始細胞およびその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

腫瘍細胞集団に由来する単離された腫瘍開始細胞集団であって、前記単離された腫瘍開始細胞集団が少なくとも90％の腫瘍開始細胞を含み、前記腫瘍開始細胞は、（ｉ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも２倍高いレベルで５Ｔ４を発現し、（ｉｉ）腫瘍原性であり、（ｉｉｉ）遊走が可能であり、（ｉｖ）自己複製が可能であり、（ｖ）非腫瘍原性細胞を含む腫瘍を生じる、単離された腫瘍開始細胞集団。

【請求項２】

少なくとも９５％の腫瘍開始細胞を含む、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。

【請求項３】

腫瘍開始細胞が、それが由来する腫瘍細胞集団の５０％未満を構成する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。

【請求項４】

腫瘍開始細胞が、それが由来する腫瘍細胞集団の３３％未満を構成する、請求項３に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。

【請求項５】

腫瘍開始細胞が、それが由来する腫瘍細胞集団の２５％未満を構成する、請求項４に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。

【請求項６】

腫瘍開始細胞が、それが由来する腫瘍細胞集団の１５％未満を構成する、請求項５に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。
【請求項７】
腫瘍開始細胞が、それが由来する腫瘍細胞集団の１０％未満を構成する、請求項６に記載の単離された腫瘍開始細胞集団。
【請求項８】
腫瘍開始細胞および非腫瘍原性細胞を含む腫瘍細胞集団に由来する濃縮された腫瘍開始細胞集団であって、前記腫瘍開始細胞が、（ｉ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも２倍高いレベルで５Ｔ４を発現し、（ｉｉ）腫瘍原性であり、（ｉｉｉ）遊走が可能であり、（ｉｖ）自己複製が可能であり、（ｖ）非腫瘍原性細胞を含む腫瘍を生じ、（ｖｉ）前記腫瘍細胞集団と比較して少なくとも２倍濃縮されている、濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項９】
腫瘍開始細胞が、前記腫瘍細胞集団と比較して少なくとも５倍濃縮されている、請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１０】
腫瘍開始細胞が、前記腫瘍細胞集団と比較して少なくとも１０倍濃縮されている、請求項９に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１１】
腫瘍開始細胞が、前記腫瘍細胞集団と比較して少なくとも５０倍濃縮されている、請求項１０に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１２】
腫瘍開始細胞が、前記腫瘍細胞集団と比較して少なくとも１００倍濃縮されている、請求項１１に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１３】
同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも５倍高いレベルで５Ｔ４を発現する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１４】
同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも１０倍高いレベルで５Ｔ４を発現する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１５】
同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも５倍低いレベルでＣＤ２４をさらに発現する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１６】
ＣＤ４４をさらに発現する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１７】
同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも５倍低いレベルでＣＤ２４をさらに発現し、およびＣＤ４４をさらに発現する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１８】
肺腫瘍に由来する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項１９】
単離された腫瘍開始細胞集団の１０個以下の細胞の部分集団が、触知可能な腫瘍を形成する能力を有する、請求項１に記載の単離された腫瘍開始細胞集団または請求項８に記載の濃縮された腫瘍開始細胞集団。

【請求項２０】
（ａ）細胞の大多数が５Ｔ４を低レベルで発現し、細胞の少数が５Ｔ４を高レベルで発現する、解離した腫瘍細胞を提供するステップと、
（ｂ）前記解離した腫瘍細胞を、５Ｔ４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、
（ｃ）前記低レベルよりも少なくとも２倍高い、高レベルの５Ｔ４発現を示す（ｂ）の薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップと
を含み、それにより、腫瘍開始細胞集団が単離または濃縮される、腫瘍開始細胞集団を単離または濃縮する方法。
【請求項２１】
５Ｔ４と特異的に結合する薬剤が抗５Ｔ４抗体である、請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
前記単離または濃縮された腫瘍開始細胞集団が少なくとも９５％の腫瘍開始細胞を含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２３】
腫瘍開始細胞集団が、腫瘍開始細胞中で、解離した腫瘍細胞と比較して少なくとも２倍濃縮される、請求項２０に記載の方法。
【請求項２４】
腫瘍開始細胞集団が、腫瘍開始細胞中で、解離した腫瘍細胞と比較して少なくとも５倍濃縮される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
腫瘍開始細胞集団が、腫瘍開始細胞中で、解離した腫瘍細胞と比較して少なくとも１０倍濃縮される、請求項２４に記載の方法。
【請求項２６】
解離した腫瘍細胞が肺癌細胞である、請求項２３から２５のいずれか１つに記載の方法。
【請求項２７】
細胞を選択するステップが、フローサイトメトリー、蛍光活性化細胞選別、パニング、親和性カラム分離、または磁気選択によって行われる、請求項２０に記載の方法。
【請求項２８】
（ｄ）前記解離した腫瘍細胞を、ＣＤ４４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、
（ｅ）（ｄ）の薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップと
をさらに含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項２９】
ＣＤ４４と特異的に結合する薬剤が抗ＣＤ４４抗体である、請求項２８に記載の方法。
【請求項３０】
（ｄ）前記解離した腫瘍細胞を、ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、
（ｅ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも５倍低い、低レベルのＣＤ２４発現を示し、かつ（ｄ）の薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップと
をさらに含む、請求項２０または２８に記載の方法。
【請求項３１】
ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤が抗ＣＤ２４抗体である、請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
（ｄ）前記解離した腫瘍細胞を、ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、
（ｅ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも５倍高い、高レベルのＣＤ２４発現を示し、かつ（ｄ）の薬剤と特異的に結合する細胞を枯渇させるステップと
をさらに含む、請求項２０または２８に記載の方法。

【請求項３３】
（ｄ）前記解離した腫瘍細胞を、腫瘍細胞によって発現される分化マーカーと特異的に結合する１つまたは複数の薬剤と接触させるステップと、
（ｅ）（ｄ）の１つまたは複数の薬剤と特異的に結合する細胞の腫瘍開始細胞集団を枯渇させるステップと
をさらに含む、請求項２０に記載の方法。
【請求項３４】
ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤が抗ＣＤ２４抗体である、請求項３３に記載の方法。
【請求項３５】
請求項２０から３４のいずれか一項に記載の方法に従って単離および調製された、単離または濃縮された腫瘍開始細胞集団。
【請求項３６】
（ａ）請求項１から１９または３５のいずれか一項に記載の、単離または濃縮された腫瘍開始細胞集団を提供するステップと、
（ｂ）前記腫瘍開始細胞を抗癌薬または候補抗癌薬と接触させるステップと、
（ｃ）前記腫瘍開始細胞を抗癌薬または候補抗癌薬と接触させた後の、腫瘍開始細胞の腫瘍形成能の変化を観察するステップと
を含む、抗癌薬または候補抗癌薬の有効性を試験する方法。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願
その全体が本明細書中に参照により組み込まれている、２００９年３月２７日に出願の米国仮出願第６１／１６４，２７２号の優先権が主張されている。
【０００２】
本発明は、一般に、癌幹細胞または腫瘍開始細胞とも呼ばれる腫瘍原性が高い細胞、その単離方法、および前記方法で使用するための腫瘍開始細胞マーカーに関する。より詳細には、本発明は、５Ｔ４発現が高レベルであり（５Ｔ４^{高}）、場合によりＣＤ２４発現が存在しないまたは低レベルであり（ＣＤ２４$^{－／低}$）、ＣＤ４４発現が存在する（ＣＤ４４$^{＋}$）、腫瘍開始細胞に関する。開示した腫瘍開始細胞集団は、癌治療のための新規薬物および標的の同定、ならびに既存の抗癌薬の有効性の試験に有用である。
【背景技術】
【０００３】
自己複製および分化を調節するシグナル伝達経路は、腫瘍内の細胞の不均質性に寄与する。自己複製および分化の様々な状態が、本質的に異なるレベルのｉｎ　ｖｉｖｏ腫瘍原性およびｉｎ　ｖｉｔｒｏクローン原性を示す腫瘍部分集団および個々の腫瘍細胞によって明白に示されている。Ｌｏｂｏら、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｃｅｌｌ　Ｄｅｖ．Ｂｉｏｌ．、２００７、２３：６７５～６９９、Ｒｅｙａら、Ｎａｔｕｒｅ、２００１、４１４：１０５～１１１を参照されたい。新しい腫瘍モデルの開発が開始されており、細胞レベルでの腫瘍の不均質性の特徴づけが可能となっている。免疫不全マウスにおける固形腫瘍の移植片は、元の試料の組織学を反映しているが、血清中で培養した細胞系からの異種移植片では再現されない、豊かな構造を示す。規定の無血清培地および／または三次元マトリックス中で癌細胞を培養することで、血清を含む培地中で培養するよりも細胞の生理的特徴が保存される（Ｌｅｅら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｃｅｌｌ、２００６、９：３９１～４０３）。腫瘍、異種移植片、および細胞系からの細胞の蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）により、特定の腫瘍部分集団の分子の特徴づけが容易になっている。
【０００４】
多くの腫瘍では、特定の表面マーカーによって定義される細胞は、同じ腫瘍中の他の細胞よりも効率的に腫瘍を形成する。これらの細胞は、多能性腫瘍開始細胞、癌幹細胞、腫

瘍開始細胞、および癌開始細胞とも呼ばれる。腫瘍開始細胞は造血系において最初に同定され（ＢｏｎｎｅｔおよびＤｉｃｋ、Ｎａｔ．Ｍｅｄ．、１９９７、３（７）：７３０～７３７）、それ以降、脳、乳房、結腸、頭頚部、肺、黒色腫、膵臓、および前立腺の腫瘍を含めた固形腫瘍において同定されている。ＶｉｓｖａｄｅｒおよびＬｉｎｄｅｍａｎ、Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｃａｎｃｅｒ、２００８、８：７５５～７６８およびその中に引用されている参考文献を参照されたい。特定の腫瘍型では、同じ細胞表面マーカーの組を使用して、腫瘍開始細胞を新鮮な腫瘍試料、異種移植片、および細胞系から単離することができる。たとえば、Ａｌ－Ｈａｊｊら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、２００３、１００：３９８３～３９８８、ＦｉｌｍｏｒｅおよびＫｕｐｅｒｗａｓｓｅｒ、Ｂｒｅａｓｔ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、２００８、１０：Ｒ２５、Ｈｅｒｍａｎｎら、Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ、２００７、１：３１３～３２３、Ｍａｔｓｕｉら、Ｂｌｏｏｄ、２００４、１０３：２３３２～２３３６を参照されたい。いくつかの腫瘍型における腫瘍開始細胞のマーカーであるＣＤ４４は、腫瘍化において直接的な役割を有し、ｐ５３によって抑制されることが最近示された（Ｇｏｄａｒら、Ｃｅｌｌ、２００８、１３４：６２～７３）。

【０００５】

腫瘍開始細胞は標準の治療に対して耐性を示す。たとえば、腫瘍開始細胞は化学療法を受けた乳癌患者の試料中で高度に濃縮されており、これにより、処置後の疾患の再発の説明が示唆されている（Ｙｕら、Ｃｅｌｌ、２００７、１３１：１１０９～１１２３）。同様に、膠芽細胞腫中のＣＤ１３３$^{+}$腫瘍開始細胞は、より蔓延しているＣＤ１３３$^{-}$細胞を根絶させた照射に対して耐性があった（Ｂａｏら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、２００６、６８：６０４３～６０４８）。したがって、治療の状況において、腫瘍開始細胞の排除は、腫瘍の大部分を標的とするために使用するもの以外の標的化機構を必要とする可能性がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００６】

癌における長期的な患者の生存を有意に増加させる処置を開発するためには、腫瘍の再発および転移を担う腫瘍開始細胞がこの疾患の重要な治療標的となる。この要求を満たすために、本発明は、新規および既存の抗癌薬の有効性を試験するために使用できる、腫瘍開始細胞の単離および濃縮された集団を提供する。

【課題を解決するための手段】

【０００７】

本発明は、単離および濃縮された腫瘍開始細胞集団を提供する。本発明の一態様では、単離された腫瘍開始細胞集団は、少なくとも９０％の腫瘍開始細胞を含む腫瘍細胞集団に由来し、腫瘍開始細胞は、（ｉ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも２倍高いレベルで５Ｔ４を発現し、（ｉｉ）腫瘍原性であり、（ｉｉｉ）遊走が可能であり、（ｉｖ）自己複製が可能であり、（ｖ）非腫瘍原性細胞を含む腫瘍を生じる。本発明の別の態様では、腫瘍開始細胞および非腫瘍原性細胞を含む腫瘍細胞集団に由来する、濃縮された腫瘍開始細胞集団を提供し、腫瘍開始細胞は、（ｉ）同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも２倍高いレベルで５Ｔ４を発現し、（ｉｉ）腫瘍原性であり、（ｉｉｉ）遊走が可能であり、（ｉｖ）自己複製が可能であり、（ｖ）非腫瘍原性細胞を含む腫瘍を生じ、（ｖｉ）腫瘍細胞集団と比較して少なくとも２倍濃縮されている。また、単離または濃縮された腫瘍開始集団は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも２倍低いレベルでＣＤ２４を発現していても、および／またはＣＤ４４を発現していてもよい。

【０００８】

また、単離および濃縮された腫瘍開始細胞集団を調製する方法も提供する。たとえば、腫瘍開始細胞集団を単離または濃縮する代表的な方法には、（ａ）細胞の大多数が５Ｔ４を低レベルで発現し、細胞の少数が５Ｔ４を高レベルで発現する、解離した腫瘍細胞を提供するステップと、（ｂ）解離した腫瘍細胞を、５Ｔ４と特異的に結合する薬剤と接触さ

せるステップと、（ｃ）低レベルよりも少なくとも約２倍高い、高レベルの５Ｔ４発現を示す程度まで（ｂ）の薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップとが含まれ、それにより、腫瘍開始細胞集団が単離または濃縮される。場合により、単離または濃縮された、５Ｔ４を発現する腫瘍開始細胞集団を調製する方法には、解離した腫瘍細胞を、ＣＤ４４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、ＣＤ４４の発現を示す程度まで薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップとの、追加のステップが含まれる。場合により、単離または濃縮された、５Ｔ４を発現する腫瘍開始細胞集団を調製する方法には、解離した腫瘍細胞を、ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約５倍低い、低レベルのＣＤ２４発現を示す程度まで薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップとも含まれ得る。代替として、腫瘍開始細胞集団は、原発性腫瘍細胞を無血清条件下で培養することによって濃縮することができる。本発明のさらに別の代表的な方法では、５Ｔ４を発現する腫瘍開始細胞集団を単離または濃縮することには、解離した腫瘍細胞を、ＣＤ２４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約５倍高い、高レベルのＣＤ２４発現を示す程度まで薬剤と特異的に結合する細胞を枯渇させるステップとが含まれ得る。

【０００９】

さらに、開示した単離または濃縮された腫瘍開始細胞集団を用いた、抗癌薬または候補抗癌薬の有効性を試験する方法を提供する。たとえば、そのような方法には、（ａ）単離または濃縮された腫瘍開始細胞集団を提供するステップと、（ｂ）腫瘍開始細胞を抗癌薬または候補抗癌薬と接触させるステップと、（ｃ）腫瘍開始細胞を抗癌薬または候補抗癌薬と接触させた後の、腫瘍開始細胞の腫瘍形成能の変化を観察するステップとが含まれ得る。

【図面の簡単な説明】

【００１０】

【図１Ａ】$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{-/低}$」と表示し、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{高}$」と表示する。ＣＤ２４およびＣＤ４４の発現を用いたフローサイトメトリー分析の結果を示す。フローサイトメトリーならびに抗ＣＤ２４および抗ＣＤ４４抗体を用いた標識によって、明確に区別できるＨ４６０Ｔの集団が明らかとなった。

【図１Ｂ】$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{-/低}$」と表示し、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{高}$」と表示する。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞または$CD24^{高}CD44^{+}$細胞の皮下移植を受けたマウスを示す。矢印は移植の部位である。

【図１Ｃ】$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{-/低}$」と表示し、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{高}$」と表示する。図１Ｂの観察の定量分析の結果を示す折れ線グラフである。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭ（標準誤差）を示す。

【図１Ｄ】$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{-/低}$」と表示し、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{高}$」と表示する。Ｈ４６０Ｔ細胞中のＣＤ４４発現に基づいたＣＤ４４の腫瘍化を示す折れ線グラフである。$CD24^{-/低}CD44^{高}$および$CD24^{-/低}CD44^{低}$細胞を選別し、マウス内に皮下移植した。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭを示す。

【図１Ｅ】$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{-/低}$」と表示し、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞は「$CD24^{高}$」と表示する

。選別した集団のスフェロイドの成長を示す折れ線グラフである。ＦＡＣＳで単離したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４＋またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を懸濁液中で５日間培養して、スフェロイドの形成を促進した。直径０．２ｍｍのスフェロイドを２４ウェルプレートの個々のウェルに移し、２週間にわたる経時変化を測定した。値は、平均スフェロイド体積±ＳＤ（平均の標準偏差）を示す。

【図１Ｆ】ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４^{高}」と表示する。ｍＴＯＲ阻害剤ＣＣＩ－７７９に対するＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４^{高}およびＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４^{低}集団の示差的応答を示す折れ線グラフである。

【図１Ｇ】ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４^{高}」と表示する。トランスウェル遊走アッセイの結果を示す棒グラフである。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、血清に応答して効率的に遊走した。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$値は、それぞれの実験についてＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$に対して正規化した平均細胞数（±ＳＤ（ｎ＝４））を示す。

【図１Ｈ】ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞表現型がＨ４６０Ｔ非小細胞肺癌系（ＮＳＣＬＣ）中の腫瘍開始細胞を特徴づけることを示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞は「ＣＤ２４^{高}」と表示する。フィブロネクチンでコーティングしたスライド上にスフェロイドを置いた７２時間後の、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$スフェロイドのフィブロネクチン上の効率的な遊走を示す顕微鏡写真である。

【図２Ａ】Ｈ４６０Ｔ中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の多能性を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。３週間の培養後の、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$のフローサイトメトリー分析の結果を示す。ＣＤ２４およびＣＤ４４発現に基づいて明確に区別できる集団が明らかとなる。

【図２Ｂ】Ｈ４６０Ｔ中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の多能性を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。選別したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の代表的な腫瘍中のＣＤ２４およびＣＤ４４発現のフローサイトメトリー分析の結果を示す。

【図２Ｃ】Ｈ４６０Ｔ中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の多能性を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。単一の選別したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞から確立したクローン系におけるＣＤ２４およびＣＤ４４発現のフローサイトメトリー分析の結果を示す。移行中のＣＤ２４$^{－／低}$クローン中のＣＤ２４^{高}細胞の割合は、クローンに応じて１０～７０％の範囲であった。それぞれのクローン中のＣＤ２４分布は、培養中で何カ月間も安定していた。

【図２Ｄ】Ｈ４６０Ｔ中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の多能性を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。図２Ｃに示したクローン系の腫瘍増殖を示す折れ線グラフである。ＣＤ２４$^{－／低}$細胞をＣＤ２４$^{－／低}$クローンから選別し、ＣＤ２４^{高}細胞をＣＤ２４^{高}クローンから選別した。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭを示す。Ｔｒは移行中のクローンであり、Ｓｔは安定したクローンである。

【図２Ｅ】Ｈ４６０Ｔ中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の多能性を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。移行中のＣＤ２４$^{－／低}$クローンからＦＡＣＳで単離したＣＤ２４$^{－／低}$およびＣＤ２４^{高}細胞の腫瘍増殖を示す折れ線グラフである。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭを示す。

【図３Ａ】ＣＤ２４発現に基づいて選別したＨ４６０Ｔ細胞の多能性を示す図である。実験設計の模式図である。選別した細胞を２．５μＭのＣＦＳＥ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、米国カリフォルニア州Ｃａｒｌｓｂａｄ）で標識し、十分に洗浄し、その後、別の選別した集団と共に親集団の比（１部のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$対３部のＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$）で播種した。２．５μＭのＣＦＳＥは、この実験の時間経過にわたってＨ４６０Ｔ細胞の成長に対してわずかな影響しか与えなかった、または影響を与えなかった。３日後、培養物をＣＤ２４について分析し、初期集団をＣＦＳＥに基づいて識別することができた。

【図３Ｂ】ＣＤ２４発現に基づいて選別したＨ４６０Ｔ細胞の多能性を示す図である。個々にまたは組み合わせて培養した、標識したおよび標識していない集団のフローサイトメトリー分析の結果を示す。

【図３Ｃ】ＣＤ２４発現に基づいて選別したＨ４６０Ｔ細胞の多能性を示す図である。図３Ｂに示す反復実験のヒストグラムを示す。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞からＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$への移行は、細胞を単独で培養した、またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$もしくはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞と共に同時培養した場合に比較可能であった。ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を単独で培養した、またはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$もしくはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞と共に同時培養した場合に、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$表現型の安定性が観察された。

【図４Ａ】ＣＤ２４$^{－／低}$が培養したＨＣＣ２４２９細胞中の腫瘍開始細胞を同定することを示す図である。ＣＤ２４発現に基づいたＨＣＣ２４２９のフローサイトメトリー分析の結果を示す。

【図４Ｂ】ＣＤ２４$^{－／低}$が培養したＨＣＣ２４２９細胞中の腫瘍開始細胞を同定することを示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$ＨＣＣ２４２９集団の示差的腫瘍原性を示す折れ線グラフである。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭを示す。

【図４Ｃ】ＣＤ２４$^{－／低}$が培養したＨＣＣ２４２９細胞中の腫瘍開始細胞を同定することを示す図である。分別の２週間後のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$集団のフローサイトメトリー分析の結果を示す。培養したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞はＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$へと移行することができるが、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$はＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞へと移行しない。

【図５】ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞から調製したｍＲＮＡ転写物の３つ組試料とハイブリダイズさせたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイ上のＣＤ２４　ｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。

【図６Ａ】癌胎児性タンパク質５Ｔ４（ＴＰＢＧ）がＨ４６０Ｔ多能性腫瘍開始細胞中で発現されることを示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４＋およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞から調製したｍＲＮＡ転写物とハイブリダイズさせたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイ上の５Ｔ４（ＴＰＢＧ）ｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。値は、３つ組試料の平均±ＳＤを示す。

【図６Ｂ】癌胎児性タンパク質５Ｔ４（ＴＰＢＧ）がＨ４６０Ｔ多能性腫瘍開始細胞中で発現されることを示す図である。培地中で成長させた、またはビヒクルもしくはオールトランス型レチノイン酸で処理したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４＋およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞中の５Ｔ４発現を検出するための、免疫ブロット分析の結果を示す。

【図７Ａ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。成長（左）および気液界面での分化（右）を促進する条件下でのＮＳＣＬＣの８７４２６初代培養物の顕微鏡写真を示す。スケールバーは２００μＭである。

【図７Ｂ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。分化中の示した時点での５Ｔ４発現を検出するための、免疫ブロット分析の結果を示す。

【図７Ｃ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。成長または分化の条件下で初代培養肺癌細胞から調製したｍＲＮＡ転写物とハイブリダイズさせたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイ上のｍＲＮＡレベルを示す。値は平均±ＳＤを表す。ＦＮ１はフィブロネクチンであり、ＶＩＭはビメンチンである。

【図７Ｄ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。細胞系培養物（Ｈ４６０Ｔ）および初代培養物（８７４２６Ａ１）の腫瘍モデル中の遺伝子発現を比較するための、遺伝子プロファイリング実験の結果を示す。実施例３を参照されたい。Ｈ４６０Ｔデータ組においてノイズレベルを超える遺伝子の発現の差異を比較した。統計的分析により偽発見率０．００１５が得られた。

【図７Ｅ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。分化の０、１２、および２４日目における８７４２６細胞の無血清初代培養物中のＣＤ２４およびＣＤ４４のｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。培養物を、細胞を気液界面に曝さずに、ＢＥＢＭ成長培地中で維持したか、または５０ｎＭのレチノイン酸および１ｍＭの$CaCl_2$を含有するＣｎＴ－２３培地中で１２および２４日間分化させた。

【図７Ｆ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。図７Ｄに示した実験の２つ組試料中のＣＤ２４およびＣＤ４４発現の分布を示す。単層培養物としての１２日間の分化後、細胞表面のＣＤ２４発現のレベルが増加し、２４日目まで保持された。ＣＤ４４発現の細胞表面レベルは１２日目までに減少し、２４日間の分化によってさらに低下した。

【図７Ｇ】未分化および分化した８７４２６初代培養細胞に関連する遺伝子発現プロファイルを示す図である。分化の０、１２、および２４日目における８７４２６細胞の無血清初代培養物中の血管形成因子のｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。ｍＲＮＡのレベルは、実施例６に記載の遺伝子発現プロファイリングを用いて決定した。

【図８Ａ】ＮＳＣＬＣ一次移植異種移植片中の異種５Ｔ４発現を示す図である。３７６２２系からの解離した異種移植片（左パネル）、無血清培地中の３７６２２異種移植片から確立した培養細胞（中央パネル、５週間の培養後に示す）、および無血清培養物の移植した細胞の異種移植片（右パネル）中の５Ｔ４発現のフローサイトメトリー分析を示す。

【図８Ｂ】ＮＳＣＬＣ一次移植異種移植片中の異種５Ｔ４発現を示す表である。解離した３７６２２または６０２５７異種移植片の$5T4^{高}$または$5T4^{低}$細胞を移植した動物における腫瘍発生率を示す（＃１、＃２は反復実験を示す）。

【図９Ａ】Ｓｏｘ－２が$CD24^{-/低}$細胞の分化を誘発することを示す図である。$CD24^{-/低}$クローンから調製した転写物とハイブリダイズさせたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイのＳｏｘ－２　ｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。

【図９Ｂ】Ｓｏｘ－２が$CD24^{-/低}$細胞の分化を誘発することを示す図である。Ｓｏｘ－２－Ｆｌａｇ、Ｓｏｘ－１１－Ｆｌａｇ、空のベクター、またはＤＮＡなしで形質移入した安定した$CD24^{-/低}$クローン中のＳｏｘ－２およびＳｏｘ－１１の転写物を検出するための、免疫ブロット分析の結果を示す。細胞を形質移入の２４時間後に収集し、抗Ｆｌａｇ（上部）または抗β－アクチン抗体を用いた免疫ブロットに供した。

【図９Ｃ】Ｓｏｘ－２が$CD24^{-/低}$細胞の分化を誘発することを示す図である。Ｓｏｘ－２－Ｆｌａｇ、Ｓｏｘ－１１－Ｆｌａｇ、空のベクター、またはＤＮＡなしで形質移入した安定した$CD24^{-/低}$クローン中の、３週間培養した後のＣＤ２４のフローサイトメトリー分析の結果を示す。

【図９Ｄ】Ｓｏｘ－２が$CD24^{-/低}$細胞の分化を誘発することを示す図である。それぞれの試料中の$CD24^{高}$細胞のパーセンテージを示す、図９Ｃに示したデータのヒストグラムを示す。

【図１０Ａ】抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートに対する$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞の感度を示す図である。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞を「$CD24^{-/低}$」

と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。４日間のＭＴＳアッセイの結果を示す折れ線グラフである。十字線は、遊離カリチアマイシンに対する感度を示す。

【図１０Ｂ】抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートに対するＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の感度を示す図である。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４$^{－／低}$」と表示し、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞を「ＣＤ２４^{高}」と表示する。クローン原性アッセイの結果を示す折れ線グラフである。十字線は、遊離カリチアマイシンに対する感度を示す。

【図１１】Ｈ４６０Ｔ親細胞系よりも高い発現を示したＨ４６０Ｔクローン系２４Ｎ－２６における、５Ｔ４^{高}および５Ｔ４^{低}細胞の腫瘍増殖を示す折れ線グラフである。細胞を５Ｔ４発現に基づいて選別し、マウスに皮下移植した。値は、平均腫瘍測定値±ＳＥＭを示す。

【図１２Ａ】抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した一次移植異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す図である。菱形はビヒクルであり、四角は抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、丸は抗ＣＤ３３－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、三角形はシスプラチンであり、アスタリスク（＊）はｐ＜０．０５である。抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した後の、３７６２２異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す折れ線グラフである。ステージング後の１、５、および９日目に、動物に抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートを投与した。値は、平均腫瘍体積±ＳＥＭを示す。

【図１２Ｂ】抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した一次移植異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す図である。菱形はビヒクルであり、四角は抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、丸は抗ＣＤ３３－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、三角形はシスプラチンであり、アスタリスク（＊）はｐ＜０．０５である。抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した後の、６０２７４異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す折れ線グラフである。ステージング後の１、５、および９日目に、動物に抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートを投与した。値は、平均腫瘍体積±ＳＥＭを示す。

【図１２Ｃ】抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した一次移植異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す図である。菱形はビヒクルであり、四角は抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、丸は抗ＣＤ３３－カリチアマイシンのコンジュゲートであり、三角形はシスプラチンであり、アスタリスク（＊）はｐ＜０．０５である。抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートで処理した後の、６０２７４異種移植片の腫瘍体積の退縮を示す折れ線グラフである。ステージング後の１、５、および９日目に、動物に抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートを投与した。値は、平均腫瘍体積±ＳＥＭを示す。

【図１３】ＮＳＣＬＣ一次移植系３７６２２、６０２７４、および６０２５７の複数の腫瘍（Ｔ１、Ｔ２、Ｔ３）の転写物とハイブリダイズさせたＡｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイ上の５Ｔ４（ＴＰＢＧ）ｍＲＮＡレベルを示す棒グラフである。３７６２２異種移植片はヌードマウスのものであり、６０２７４および６０２５７異種移植片はｎｏｄ－ｓｃｉｄマウスのものであった。

【発明を実施するための形態】

【００１１】

本発明は、癌胎児性抗原５Ｔ４を発現し、場合によりＣＤ４４および低レベルのＣＤ２４も発現する腫瘍開始細胞の予測的同定の方法を提供する。これらの細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍原性が高く、自己複製し、遊走が可能であり、分化する能力を有する。また、開示した腫瘍開始細胞集団は、アポトーシス耐性を示し、癌の再発および転移に寄与し得る。また、腫瘍開始細胞集団を単離する方法および集団中で腫瘍開始細胞を濃縮する方法も提供する。さらに、新規腫瘍開始細胞マーカーを提供する。

【００１２】

本明細書中に開示する腫瘍開始細胞集団は、腫瘍の増殖、再発、および転移に対する治療剤の効果を研究するために有用である。単離された腫瘍開始細胞は、腫瘍開始細胞を標的とする抗体を作製するために使用できる、ユニークな治療標的を同定するために使用できる。また、単離された腫瘍開始細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ活性に基づいてまたは非腫瘍原性細胞を含めた腫瘍集団の細胞毒性に基づいて選択した薬物が、ｉｎ　ｖｉｖｏでの疾患の根絶および再発の予防に成功する確率を向上させるためのスクリーニングアッセイにも使用することができる。また、患者から単離された腫瘍開始細胞を用いて、疾患の結果および／または既知の治療に対する感度を予想し得る。

【００１３】

Ｉ．腫瘍開始細胞

腫瘍開始細胞とは、（１）増殖または発達の潜在性が低下した１つまたは複数の種類の子孫を生じることができる細胞（たとえば分化した細胞）、（２）大規模な増殖能力を有する細胞、および（３）自己複製または自己維持が可能な細胞を意味することが、当分野で知られている。たとえばＰｏｔｔｅｎら、Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ、１９９０、１１０：１００１～１０２０を参照されたい。したがって、腫瘍開始細胞は、正常な組織の機能中に失われる細胞を常に補充する、成体組織中に見つかる幹細胞（血液、内臓、乳管系、および皮膚の細胞が含まれる）の特性を共有する。

【００１４】

幹細胞の分化による成体細胞の再生の最も知られている例は、造血系である。造血幹細胞および前駆細胞などの発達的に未成熟な前駆体が分子シグナルに応答して、様々な血液およびリンパ球の細胞種が徐々に形成される。また、幹細胞は、上皮組織（Ｓｌａｃｋ、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２０００、２８７：１４３１～１４３３）および間葉組織（米国特許第５，９４２，２２５号）を含めた他の組織中にも見つかる。癌幹細胞は、たとえば、正常な幹細胞中の遺伝子損傷が原因で、または幹細胞および／もしくは分化した細胞の調節不全の増殖によって、これらの細胞種のうちの任意のものから生じ得る。

【００１５】

本発明の腫瘍開始細胞は、腫瘍原性幹細胞、すなわち、大規模または無制限に増殖する能力を有し、大多数の癌細胞を生じさせる多能性細胞を含む、任意の癌に由来し得る。確立された腫瘍内では、ほとんどの細胞は大規模に増殖して新しい腫瘍を形成する能力を失っており、腫瘍開始細胞の小さな部分組が増殖し、それにより、腫瘍開始細胞を再生させ、腫瘍形成能を欠く腫瘍細胞を生じさせる。腫瘍開始細胞は非対称的および対称的に分裂し、可変性の増殖速度を示し得る。

【００１６】

腫瘍開始細胞とは対照的に、非腫瘍原性腫瘍細胞は、免疫不全宿主内に移植した際に触知可能な腫瘍を形成することができず、同数の分画していない解離した癌細胞を同じ状況下で移植した場合、腫瘍開始細胞は同じ期間で触知可能な腫瘍を形成する。触知可能な腫瘍は、取り扱う、触診する、または感じることができる腫瘍として医学分野の技術者に知られている。また、非腫瘍原性細胞は、腫瘍開始細胞と比較して減少した遊走を示し、腫瘍開始細胞を生じることができず、分化マーカーの発現の増加も示す。

【００１７】

腫瘍開始細胞を単離し得る代表的な癌には、肺、卵巣、結腸直腸、および胃の腫瘍などの５Ｔ４発現腫瘍を含めた、固形腫瘍によって特徴づけられた癌が含まれる。腫瘍開始細胞を単離し得るさらなる代表的な癌には、聴神経腫、急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、急性骨髄性白血病、腺癌、腺扁平上皮癌、副腎皮質癌、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、肛門癌、血管肉腫、星細胞腫、Ｂ細胞リンパ腫および白血病、基底細胞癌、類基底癌、胆管癌、胆管癌腫、膀胱癌、膀胱癌腫、脳腫瘍、乳癌、気管支原性癌、巨大病変ＮＨＬおよびワルデンストレームマクログロブリン血症、癌肉腫、小脳星細胞腫、大脳星細胞腫、子宮頚癌、軟骨肉腫、脊索腫、絨毛癌、慢性白血球性白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、明細胞癌、結腸癌、結腸直腸癌、頭蓋咽頭腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、嚢胞腺癌、胚性癌腫、子宮内膜癌、内皮肉腫、上衣腫、上皮肉腫、食道癌、ユーイング肉腫

、ユーイング腫瘍、線維肉腫、胆嚢癌、妊娠性栄養芽細胞腫瘍、巨細胞癌、神経膠腫、有毛細胞白血病、血管芽腫、乳児期および小児期の血管腫、造血悪性疾患、急性リンパ芽球性白血病を含めた造血悪性疾患、肝細胞癌、高悪性度免疫芽細胞ＮＨＬ、高悪性度リンパ芽球性ＮＨＬ、高悪性度小型非切れ込み細胞ＮＨＬ、ホジキンリンパ腫、それだけには限定されないが低悪性度／濾胞性非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）、中悪性度拡散性ＮＨＬ、中悪性度／濾胞性ＮＨＬを含めた下咽頭癌、島細胞癌、カポジ肉腫、腎臓癌、ラブドイド表現型を有する大細胞癌、大細胞肺癌、咽頭癌、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、肝臓癌、肺癌、肺癌腫、リンパ管内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ芽球性白血病、リンパ球性白血病、リンパ上皮腫様癌、悪性黒色腫、悪性中皮腫、悪性胸腺腫、髄様癌、髄芽腫、黒色腫、髄膜腫、中皮腫、単球性白血病、多発性骨髄腫、菌状息肉腫、骨髄性白血病、粘液肉腫、上咽頭癌、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、乏突起神経膠腫、口腔癌、口咽頭癌、骨原性肉腫、骨肉腫、卵巣癌、上皮性卵巣癌、卵巣生殖細胞腫瘍、膵癌、膵癌腫、乳頭腺癌、乳頭癌、副甲状腺癌、陰茎癌、松果体腫、下垂体腫瘍、前骨髄急性白血病、前立腺癌、前立腺癌、肺芽細胞腫、直腸癌、腎細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺癌、肉腫、皮脂腺癌、精上皮腫、皮膚癌、小細胞肺癌、小細胞肺癌腫、小腸癌、小リンパ球性（ＳＬ）ＮＨＬ、軟組織肉腫、扁平細胞癌、扁平細胞肺癌、胃癌、汗腺癌、滑膜腫、精巣癌、甲状腺癌、子宮癌、子宮肉腫、膣癌、外陰部癌、ならびにウィルムス腫瘍が含まれる。

【００１８】

また、腫瘍開始細胞は、増殖性疾患、すなわち、細胞分裂または増殖の制御の欠如または不良によって特徴づけられた、障害および疾患の多様なクラスに関連する細胞にも由来し得る。増殖性疾患には、強皮症、関節炎、若年性関節炎、痛風性関節炎、および肝硬変を含めた様々な線維性状態などの、結合組織の過成長に関連する障害、ならびに再狭窄、動脈硬化症、および増殖性糖尿病性網膜症などの状態が含まれる。

【００１９】

Ｉ．Ａ．腫瘍開始細胞マーカー

腫瘍開始細胞は、陽性および陰性の分子マーカーを用いて選択し得る。腫瘍開始細胞陽性マーカー（すなわち、腫瘍開始細胞によって、非腫瘍原性細胞または分化した細胞と比較して上昇したレベルで発現されるマーカー）と結合する試薬は、腫瘍開始細胞の選択に使用することができる。また、腫瘍開始細胞陽性マーカーは、非腫瘍原性癌細胞、すなわち腫瘍開始細胞以外の癌細胞上にも存在していてよいが、そのレベルは低下している。広く発現されるマーカーは、腫瘍開始細胞中で発現レベルの測定可能な変化を示し得る、および／またはさらなる陽性もしくは陰性のマーカーと組み合わせて使用した場合に腫瘍開始細胞の分解能を提供し得る。腫瘍開始細胞陰性マーカー（すなわち、腫瘍開始細胞によって発現されないまたは測定可能に低下したレベルで発現されるマーカー）と結合する試薬は、集団中の腫瘍開始細胞ではない腫瘍細胞の排除に使用することができる。陽性および陰性の分子マーカーを用いた選択では、有用なマーカーには、生細胞が分別および追跡を受け入れるように、細胞表面上に発現されるものが含まれる。

【００２０】

免疫ブロットなどの技法を用いて発現レベルを評価する場合、腫瘍開始細胞陽性マーカーは、典型的には、同じ起源の分化した細胞または非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約２倍高い、たとえば、少なくとも約４倍高い、または少なくとも約５倍高い、または少なくとも約８倍高い、または少なくとも約１０倍高い、または少なくとも約１５倍高い、または少なくとも約２０倍高い、または少なくとも約５０倍高い、または少なくとも約１００倍高いレベルで発現される。フローサイトメトリーを用いて発現レベルを評価する場合、腫瘍開始細胞陽性マーカーは、典型的には、同じ起源の分化した細胞または非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約０．５ｌｏｇ高い、たとえば、少なくとも約１ｌｏｇ高い、少なくとも約１．５ｌｏｇ高い、少なくとも約２ｌｏｇ高い、または少なくとも約３ｌｏｇ高いレベルで発現される。逆に、免疫ブロットなどの技法を用いて発現レベルを評価する場合、腫瘍開始細胞陰性マーカーは、典型的には、同じ起源の分化した細胞または非腫瘍原性

細胞よりも少なくとも約２倍少ない、たとえば、少なくとも約４倍少ない、または少なくとも約８倍少ない、または少なくとも約１０倍少ない、または少なくとも約１５倍少ない、または少なくとも約２０倍少ない、または少なくとも約５０倍少ない、または少なくとも約１００倍少ないレベルで発現される。フローサイトメトリーを用いて発現レベルを評価する場合、腫瘍開始細胞陰性マーカーは、典型的には、同じ起源の分化した細胞または非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約０．５ｌｏｇ低い、たとえば、少なくとも約１ｌｏｇ低い、少なくとも約１．５ｌｏｇ低い、少なくとも約２ｌｏｇ低い、または少なくとも約３ｌｏｇ低いレベルで発現される。

【００２１】

本明細書中では、腫瘍開始細胞を肺から予測同定および単離するために単独でまたは組み合わせて使用することができる、５Ｔ４、ＣＤ４４、およびＣＤ２４マーカーを開示する。５Ｔ４およびＣＤ４４の発現は陽性マーカーである一方で、ＣＤ２４の発現は陰性マーカーである。したがって、本発明の腫瘍開始細胞には、高レベルの５Ｔ４を発現する（５Ｔ４^{高}）、中等度から高レベルのＣＤ４４を発現する（ＣＤ４４$^{+}$）、および／またはＣＤ２４をわずかに発現するもしくは発現しない（ＣＤ２４$^{－／低}$）ものが含まれる。

【００２２】

５Ｔ４癌胎児性抗原は、４２ｋＤａのグリコシル化されていないコアを含む、７２ｋＤａの高度にグリコシル化された膜貫通糖タンパク質である（Ｈｏｌｅら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９８８、５７：２３９～４６、Ｈｏｌｅら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９０、４５：１７９～８４、ＰＣＴ国際公開ＷＯ８９／０７９４７号、米国特許第５，８６９，０５３号）。ヒト５Ｔ４は、膀胱、乳房、子宮頚部、子宮内膜、肺、食道、卵巣、膵臓、胃、および精巣の癌を含めた数々の癌種で発現されており、胎盤中のシンシチウム栄養芽層以外では、正常組織には実質的に存在しない（たとえば、Ｓｏｕｔｈａｌｌら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９０、６１：８９～９５（ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｌｏｇｉｃａｌ ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ ｏｆ ５Ｔ４ ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎ ｎｏｒｍａｌ ａｎｄ ｍａｌｉｇｎａｎｔ ｔｉｓｓｕｅｓ）、Ｍｉｅｋｅら、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、１９９７、３：１９２３～１９３０（ｌｏｗ ｉｎｔｅｒｃｅｌｌｕｌａｒ ａｄｈｅｓｉｏｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅ １ ａｎｄ ｈｉｇｈ ５Ｔ４ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｎ ｔｕｍｏｒ ｃｅｌｌｓ ｃｏｒｒｅｌａｔｅ ｗｉｔｈ ｒｅｄｕｃｅｄ ｄｉｓｅａｓｅ－ｆｒｅｅ ｓｕｒｖｉｖａｌ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｒｃｉｎｏｍａ ｐａｔｉｅｎｔｓ）、Ｓｔａｒｚｙｎｓｋａら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９４、６９：８９９～９０２（ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｓｉｇｎｉｆｉｃａｎｃｅ ｏｆ ５Ｔ４ ｏｎｃｏｆｅｔａｌ ａｎｔｉｇｅｎ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ｃａｒｃｉｎｏｍａ）、Ｓｔａｒｚｙｎｓｋａら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９２、６６：８６７～８６９（ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ５Ｔ４ ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎ ｃｏｌｏｒｅｃｔａｌ ａｎｄ ｇａｓｔｒｉｃ ｃａｒｃｉｎｏｍａ）、Ｊｏｎｅｓら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９０、６１：９６～１００（ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ５Ｔ４ ａｎｔｉｇｅｎ ｉｎ ｃｅｒｖｉｃａｌ ｃａｎｃｅｒ）、ＣｏｎｎｏｒおよびＳｔｅｒｎ、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９０、４６：１０２９～１０３４（ｌｏｓｓ ｏｆ ＭＨＣ ｃｌａｓｓ－Ｉ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｉｎ ｃｅｒｖｉｃａｌ ｃａｒｃｉｎｏｍａｓ）、Ａｌｉら、Ｏｒａｌ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ、２００１、３７：５７～６４（ｐａｔｔｅｒｎ ｏｆ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ｔｈｅ ５Ｔ４ ｏｎｃｏｆｅｔａｌ ａｎｔｉｇｅｎ ｏｎ ｎｏｒｍａｌ，ｄｙｓｐｌａｓｔｉｃ ａｎｄ ｍａｌｉｇｎａｎｔ ｏｒａｌ ｍｕｃｏｓａ）、ＰＣＴ国際公開ＷＯ８９／０７９４７号、米国特許第５，８６９，０５３号を参照）。たとえば、５Ｔ４の発現を有さないと報告されている組織には、肝臓、皮膚、脾臓、胸腺、中枢神経系（ＣＮＳ）、副腎、および卵巣が含まれる。局所的または低い５Ｔ４の発現を有すると報告されている組織には、肝臓、皮膚、脾臓、リンパ節、扁桃腺、甲状腺、前立腺、および精嚢が含まれる。弱い～中等度の拡散した５Ｔ４の発現が、腎臓、肺、膵臓、咽頭、および胃腸管中で報告されている。高い５Ｔ４の発現を有すると報告さ

れている唯一の組織はシンシチウム栄養芽層であり、また、５Ｔ４は正常な血清または妊娠した女性の血清にも存在しなかった（すなわち、レベルは＜１０ｎｇ／ｍｌであった）。腫瘍中の５Ｔ４の過剰発現は疾患の進行と相関されており、５Ｔ４発現の評価が、予後不良を有する患者の同定に有用な手法として示唆されている。たとえば、Ｍｕｌｄｅｒら、Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、１９９７、３：１９２３～１９３０、Ｎａｇａｎｕｍａら、Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、２００、２２：１０３３～１０３８、Ｓｔａｒｚｙｎｓｋａら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９４、６９：８９９～９０２、Ｓｔａｒｚｙｎｓｋａら、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ．Ｈｅｐａｔｏｌ．、１９９８、１０：４７９～４８４、Ｗｒｉｇｌｅｙら、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｇｙｎｅｃｏｌ．Ｃａｎｃｅｒ、１９９５、５：２６９～２７４を参照されたい。

【００２３】

ＣＤ４４は、細胞の接着性、運動性、マトリックス分解、増殖、および／または細胞生存を変調することによって癌の転移に関与する膜貫通糖タンパク質である。たとえばＭａｒｈａｂａおよびＺｏｌｌｅｒ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｈｉｓｔｏｌ．、２００４、３５（３）：２１１～２３１を参照されたい。ＣＤ２４抗原は、陰性マーカーとして使用される分化の細胞表面糖タンパク質マーカーである、すなわち、腫瘍開始細胞はＣＤ２４発現をわずかに示すまたは示さない（ＣＤ２４$^{－／低}$）。ＣＤ４４およびＣＤ２４$^{－／低}$を発現する細胞は、単独でまたは組み合わせて、乳房、結腸、頭頚部、および膵臓の腫瘍を含めた多くの腫瘍型中の腫瘍開始細胞を同定するために使用されている。たとえば、Ａｌ－Ｈａｊｊら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、２００３、１００：３９８３～３９８８、Ｙｕら、Ｃｅｌｌ、２００７、１３１：１１０９～１１２３、Ｄａｌｅｒｂａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、２００７、１０４：１０１５８～１０１６３、Ｐｒｉｎｃｅら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、２００７、１０４：９７３～９７８、およびＬｉら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、２００７、６７：１０３０～１０３７を参照されたい。

【００２４】

本明細書中に記載の５Ｔ４およびＣＤ４４$^{＋}$マーカーに加えて、肺癌における他の潜在的な腫瘍開始細胞陽性マーカーには、ＳＬＵＧ、フィブロネクチン（ＦＮ１）、およびビメンチン（ＶＩＭ）（図７Ｃを参照）、血管内皮成長因子Ａ（ＶＥＧＦ－Ａ）、血管内皮成長因子Ｂ（ＶＥＧＦ－Ｂ）、血管内皮成長因子Ｃ（ＶＥＧＦ－Ｃ）、血小板由来成長因子（ＰＤＧＦ）、およびインスリン様成長因子－Ｉ（ＰＩＧＦ）（図７Ｆを参照）、ＣＤ１３３（Ｅｒａｍｏら、Ｃｅｌｌ Ｄｅａｔｈ Ｄｉｆｆｅｒ．、２００８、１５：５０４～５１４を参照）、ならびにＣＤ１１７（Ｄｏｎｎｅｎｂｅｒｇら、Ｊ．Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌｅａｓｅ、２００７、１２２（３）：３８５～３９１）が含まれる。肺癌における代表的なさらなる潜在的な陽性腫瘍開始細胞マーカーには、トランスフォーミング成長因子βＩＩＩ型受容体（ＴＧＦβＲＩＩＩ）、ネトリン受容体ＵＮＣ５Ｄ（Ｕｎｃ５Ｄ）、パタチン様ホスホリパーゼドメイン含有タンパク質４（ＰＮＰＬＡ４）、内向き整流性カリウムチャネル２（ＫＣＮＪ２）、ガンマーアミノ酪酸（ＧＡＢＡ）Ａ受容体、ベータ３（ＧＡＢＲＢ３）、ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ（ＤＰＹＤ）、精子関連抗原１（ＳＰＡＧ１）、腸管細胞（ＭＡＫ様）キナーゼ（ＩＣＫ）、スタニオカルシン２（ＳＴＣ２）、デフェンシンβ１（Ｄｅｆβ１）、およびＦＬＪ３８７３６が含まれる。実施例５を参照されたい。

【００２５】

さらなる陽性腫瘍開始細胞マーカーには、ＣＤ１３３（Ｂａｏら、Ｎａｔｕｒｅ、２００６、４４４：７５６～７６０、Ｏ’Ｂｒｉｅｎら、Ｎａｔｕｒｅ、２００７、４４５：１０６～１１０、Ｒｉｃｃｉ－Ｖｉｔｉａｎｉら、Ｎａｔｕｒｅ、２００７、４４５：１１１～１１５、およびＨｅｒｍａｎｎら、Ｃｅｌｌ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ、２００７、１：３１３～３２３）、ＡＬＤＨ１（Ｙｕら、Ｃｅｌｌ ２００７、１３１：１１０９～１１２３）、ＥｐＣＡＭ^{高}（Ｄａｌｅｒｂａら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、２００７、１０４：１０１５８～１０１６３）

、上皮に特異的な抗原（ＥＳＡ、Ｌｉら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、２００７、６７：１０３０～１０３７）、ＣＤ９０（Ｌｉら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、２００７、６７：１０３０～１０３７）、ＡＢＣＧ５（Ｓｃｈａｔｔｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、２００８、４５１：３４５～３４９）、ＡＢＣＧ２（Ｐａｔｒａｗａｌａら、Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．、２００５、６５（１４）：６２０７～６２１９、Ｋｏｎｄｏら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．、２００４、１０１（３）：７８１～７８６）、ＶＥＧＦ受容体－１（ＶＥＧＦＲ－１）、ＶＥＧＦＲ－２、ＶＥＧＦＲ－３、および血小板由来成長因子（ＰＤＧＦ）（図７ＦおよびＡｎｄｅｒｓｅｎら、Ｊ．Ｔｈｏｒａｃ．Ｏｎｃｏｌ．、２００９、［印刷前の電子出版］を参照）、ニューロンに特異的なエノラーゼ（ＮＳＥ）、サイトケラチン１９断片（ＣＹＦＲＡ）、癌胎児性抗原（ＣＥＡ）、扁平細胞癌抗原（ＳＣＣ）、ＣＡ１２５、ＣＡ１５．３およびＴＡＧ－７２．３（Ｍｏｌｉｎａら、Ｔｕｍｏｕｒ　Ｂｉｏｌ．、２００８、２９（６）：３７１～３８０を参照）、ＶＬＡ－２、Ｔｗｅａｋ（ＴＮＦ様アポトーシス弱誘導因子）、ＥｐｈＢ２、ＥｐｈＢ３、ヒトＳｃａ－１（ＢＩＧ１）、ＣＤ３４、β１インテグリン（ＣＤ２９）、ＣＤ１５０、ＣＸＣＲ４、ならびに表１および２に記載の分化した初代培養物に逆相関されている遺伝子組のメンバーが含まれる。実施例３および５を参照されたい。

【００２６】

低いまたは陰性の発現に基づいて腫瘍開始細胞の選択に使用し得るマーカーには、分化したまたは非腫瘍原性細胞中で発現される任意の遺伝子が含まれる。数々のそのような分子が当分野で知られている。本明細書中に記載のＣＤ２４$^{－／低}$マーカーに加えて、さらなる肺癌の腫瘍開始細胞陰性マーカーには、ＭＵＣ１／ＣＤ２２７およびサイトケラチン４（ＫＲＴ４）が含まれる（図７ＣおよびＫｕｅｍｍｅｌら、Ｌｕｎｇ　Ｃａｎｃｅｒ、２００９、６３（１）：９８～１０５を参照）。肺癌の腫瘍開始細胞の単離または濃縮に有用なさらなるマーカーには、ＣＥＡ、ＳＬＸ、ＣＹＦＲＡ、ＳＣＣ、プロガストリン放出ペプチド（ＰｒｏＧＲＰ）が含まれる。ＫｏｍａｇａｔａおよびＹｏｎｄｅａ、Ｇａｎ　Ｔｏ　Ｋａｇａｋｕ　Ｒｙｏｈｏ、２００４、３１（１０）：１６０９～１６１３を参照されたい。低いまたは陰性の発現に基づいて腫瘍開始細胞の選択に使用し得るさらなる代表的なマーカーには、表１および２に記載の分化した初代培養物に相関されている遺伝子組のメンバーが含まれる。実施例３および５を参照されたい。

【００２７】

また、上述のマーカーは、肺癌以外の癌における腫瘍開始細胞の同定にも使用することができる。

【００２８】

結腸もしくは結腸直腸癌または他の癌の場合、腫瘍開始細胞の同定に有用であり得るさらなる陽性マーカーには、プロスタグランジンＦ２受容体調節タンパク質（ＰＴＧＦＲＮ）、ＣＤ１６６（または活性白血球接着分子、ＡＬＣＡＭ）、ＣＤ１６４、ＣＤ８２、トランスフォーミング成長因子ベータ受容体１（ＴＧＦＢＲ１）、ＭＥＴ、エフリン－Ｂ２（ＥＦＮＢ２）、インテグリンアルファ６（ＩＴＧＡ６、ＣＤ４９ｆ）、奇形癌由来成長因子１（ＴＤＧＦｌ）、ヘパリン結合ＥＧＦ様成長因子（ＨＢＥＧＦ）、ＡＢＣファミリートランスポーターＡＢＣＣ４、ＡＢＣファミリートランスポーターＡＢＣＤ３、腫瘍示差的発現遺伝子２（ＴＤＥ２）、インテグリンベータ１（ＩＴＧＢ１）、腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー２１（ＴＮＦＲＳＦ２１）、ＣＤ８１およびＣＤ９（膜貫通－４スーパーファミリーのメンバー（ＴＭ４ＳＦまたはテトラスパニン））、ＫＩＡＡ１３２４、癌胎児性抗原関連細胞接着分子６（ＣＥＡＣＡＭ６）、ＦＺＤ６およびＦＺＤ７（Ｗｎｔ受容体）、ＢＭＰＲ１Ａ、ＪＡＧ１、インテグリンアルファＶ（ＩＴＧＡＶ）、ＮＯＴＣＨ２、ＳＯＸ４、ＨＥＳ１、ＨＥＳ６、アトーナル（ａｔｏｎａｌ）ホモログ１（ＡＴＯＨ１）、Ｅ－カドヘリン（ＣＤＨ１）、Ｅｐｈ受容体Ｂ２（ＥＰＨＢ２）、ｖ－ｍｙｂ骨髄芽球症ウイルス癌遺伝子ホモログ（ＭＹＢ）、ＭＹＣ、ＳＯＸ９、ＰＣＧＦ１、ＰＣＧＦ４、ＰＣＧＦ５、ＡＬＤＨ１Ａ１、ならびにＳＴＲＡＰが含まれる。結腸または結腸直腸癌における腫瘍開始細胞の同定に有用なさらなる陰性マーカーは、Ｔ細胞因子４（

ＴＣＦ４）である。たとえばＰＣＴ国際公開ＷＯ０７／０５３６４８号を参照されたい。
【００２９】
本発明の特定の態様では、単離された腫瘍開始細胞集団は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約２倍高いレベルで５Ｔ４を発現する大多数の細胞を含む。また、腫瘍開始細胞は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約４倍高い、たとえば、少なくとも約５倍高い、または少なくとも約８倍高い、または少なくとも約１０倍高い、または少なくとも約１５倍高い、または少なくとも約２０倍高い、または少なくとも約５０倍高い、または少なくとも約１００倍高いレベルで５Ｔ４を発現する場合もある。また、フローサイトメトリーを用いて５Ｔ４発現を評価する場合、腫瘍開始細胞は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約０．５ｌｏｇ高い、たとえば、少なくとも約１ｌｏｇ高い、または少なくとも約１．５ｌｏｇ高い、または少なくとも約２ｌｏｇ高い、または少なくとも約３ｌｏｇ高いレベルで５Ｔ４を発現する場合もある。
【００３０】
本発明の別の態様では、腫瘍開始細胞集団は、同じ起源のＣＤ２４$^{+}$非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約２倍低いレベルでＣＤ２４を発現するする大多数の細胞を含む。また、腫瘍開始細胞は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約４倍低い、たとえば、少なくとも約５倍低い、または少なくとも約８倍低い、または少なくとも約１０倍低い、または少なくとも約１５倍低い、または少なくとも約２０倍低い、または少なくとも約５０倍低い、または少なくとも約１００倍低いレベルでＣＤ２４を発現する場合もある。また、フローサイトメトリーを用いてＣＤ２４発現を評価する場合、腫瘍開始細胞は、同じ起源のＣＤ２４$^{+}$非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約０．５ｌｏｇ低い、たとえば、少なくとも約１ｌｏｇ低い、または少なくとも約１．５ｌｏｇ低い、または少なくとも約２ｌｏｇ低い、または少なくとも約３ｌｏｇ低いレベルでＣＤ２４を発現する場合もある。
【００３１】
また、腫瘍開始細胞集団は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約２倍高いレベルでＣＤ４４を発現する大多数の細胞を含むこともできる。また、腫瘍開始細胞は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約４倍高い、たとえば、少なくとも約５倍高い、または少なくとも約８倍高い、または少なくとも約１０倍高い、または少なくとも約１５倍高い、または少なくとも約２０倍高い、または少なくとも約５０倍高い、または少なくとも約１００倍高いレベルでＣＤ４４を発現する場合もある。また、フローサイトメトリーを用いてＣＤ４４発現を評価する場合、腫瘍開始細胞は、同じ起源の非腫瘍原性細胞よりも少なくとも約０．５ｌｏｇ高い、たとえば、少なくとも約１ｌｏｇ高い、または少なくとも約１．５ｌｏｇ高い、または少なくとも約２ｌｏｇ高い、または少なくとも約３ｌｏｇ高いレベルでＣＤ４４を発現する場合もある。
【００３２】
単離された腫瘍開始細胞集団は、その天然の環境（固形腫瘍中など）から取り出されており、また、それが天然で共に存在するが、細胞の単離を基づかせたマーカーを欠く他の細胞を少なくとも約７５％含まない。たとえば、本明細書中に開示する単離された腫瘍開始細胞集団は、非腫瘍原性細胞を少なくとも約９０％、または少なくとも約９５％含まない。純度のパーセンテージ、または非腫瘍原性細胞を含まないパーセンテージとして記載した腫瘍開始細胞集団に言及した場合、細胞の幹細胞部分集団および全癌細胞集団は、典型的には生細胞として定量する。
【００３３】
濃縮された細胞の集団は、分画していない癌細胞集団中のマーカーを有する細胞数と比較して増加した、分画した腫瘍開始細胞集団中の特定のマーカーを有する細胞数に基づいて定義することができる。また、これは、限界希釈頻度で腫瘍を形成する最小の細胞数としての腫瘍原性機能に基づいても定義し得る。濃縮された腫瘍開始細胞集団は、分画していない腫瘍細胞集団と比較して幹細胞数が約２倍濃縮されている、または約５倍以上濃縮されている、たとえば、約１０倍以上濃縮されている、または約２５倍以上濃縮されている、または約５０倍以上濃縮されている、または約１００倍以上濃縮されている場合があ

る。濃縮は、本明細書中に上述した腫瘍開始細胞の特性のうちの任意の１つ、たとえば、マーカー発現または腫瘍原性のレベルを用いて測定することができる。

【００３４】

本発明は、開示した腫瘍開始細胞集団を単離する方法を提供する。たとえば、本方法は、（ａ）解離した腫瘍細胞を提供するステップと、（ｂ）解離した腫瘍細胞を、５Ｔ４と特異的に結合する薬剤と接触させるステップと、（ｃ）５Ｔ４を発現しないまたは５Ｔ４を低レベルで発現する細胞よりも少なくとも約５倍高いレベルで（ｂ）の薬剤と特異的に結合する細胞を選択するステップとを含むことができる。また、本方法は、本明細書中に開示するまたは他の様式で当分野において知られている陽性または陰性の腫瘍開始細胞マーカーのうちの任意のものに基づいた、さらなる選択も含むことができる。陰性マーカーを用いた選択を行う場合、たとえば、１つまたは複数の陰性マーカーを発現する細胞を排除する場合、腫瘍開始細胞は、分化した細胞または非腫瘍原性細胞と比較して低下したマーカー発現を示す細胞として同定し得る。５Ｔ４^{高}、ＣＤ２４$^{－／低}$、および／またはＣＤ４４$^{＋}$腫瘍開始細胞集団を単離または濃縮するための代表的な方法を実施例１～４に記載する。

【００３５】

腫瘍開始細胞は、蛍光色素とコンジュゲートしたマーカー結合試薬ならびに無血清条件を用いた初代培養物を用いたＦＡＣＳを含めた、当分野で知られている任意の適切な手段によって単離または濃縮することができる。固相に付着させることまたはそれから外すことを含めた、任意の他の適切な方法も本発明の範囲内にある。分離の手順には、抗体でコーティングした磁気ビーズを用いた磁気分離、アフィニティークロマトグラフィー、および固体マトリックス、たとえばプレートまたは他の好都合な支持体に付着した抗体を用いたパニングが含まれ得る。正確な分離を提供する技法には、複数の色チャネル、低角度かつ鈍角の光散乱検出チャネル、インピーダンスチャネルなどの様々な度合の精巧性を有することができる蛍光活性化細胞選別器が含まれる。死細胞は、死細胞と結合する色素（ヨウ化プロピジウム（ＰＩ）または７－ＡＡＤなど）を用いた選択によって排除し得る。選択された細胞の生存度に対して過度に有害でない任意の技法を用い得る。

【００３６】

Ｉ．Ｂ．腫瘍開始細胞の機能的特性

本明細書中に記載のように、本発明の腫瘍開始細胞は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏで腫瘍原性であり、クローン原性などの腫瘍原性細胞の特徴を有しており、高度に増殖性の性質を有する。５Ｔ４^{高}、ＣＤ４４$^{＋}$、および／またはＣＤ２４$^{－／低}$を発現し、コロニー形成および増殖について有意に濃縮されている、肺腫瘍細胞系の部分集団を同定した。実施例１～４を参照されたい。腫瘍開始細胞を宿主動物内に注射することで、７５％を超える場合で、たとえば、８０％を超える場合で、または８５％を超える、または９０％を超える、または９５％を超える場合で、または１００％の場合で、腫瘍の確立の成功が一貫してもたらされた。

【００３７】

本発明の癌幹細胞は、起源の腫瘍と同じ分化状態の腫瘍を生じさせる。たとえば、分化が乏しいおよび中等度である腫瘍から単離された腫瘍開始細胞は、それぞれ分化が乏しいまたは中等度である腫瘍をｉｎ　ｖｉｖｏで生じさせる。生じる腫瘍の分子プロファイルも、腫瘍開始細胞の以前の選択に関わらず、起源の腫瘍に類似している。したがって、腫瘍開始細胞は、分化するまたは成熟癌集団の大部分を構成する非腫瘍原性細胞を生じさせる能力を示す。

【００３８】

本発明の腫瘍開始細胞は、５Ｔ４^{高}および／またはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は有するが、５Ｔ４^{低}および／またはＣＤ２４$^{＋／高}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は有さない、一貫して腫瘍を形成する能力によって実証されるように、自己複製する能力を有する。この特長により、腫瘍開始細胞が、繰り返す細胞分裂の全体にわたって多能性および高い増殖の潜在性を保持することが可能となる。

【００３９】
本発明の腫瘍開始細胞は、５Ｔ４^{高}および／またはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞の遊走する能力によって実証されるように、遊走する能力を有する。トランスウェルアッセイでは、５Ｔ４^{高}および／またはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、５Ｔ４^{低}および／またはＣＤ２４$^{＋／高}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞よりも効率的に、血清依存性の様式で遊走する。別のアッセイでは、５Ｔ４^{高}および／またはＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞のスフェロイドはフィブロネクチンでコーティングしたスライドを横切って遊走したが、５Ｔ４^{低}および／またはＣＤ２４$^{＋／高}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞のスフェロイドでは、２４時間後に細胞の遊走はわずかしか観察されない、または観察されなかった。
【００４０】
ＩＩ．応用
本明細書中に開示する腫瘍開始細胞集団は、腫瘍増殖、再発、および転移に対する治療剤の研究に有用である。癌患者から単離された場合、特定の治療の有効性は、単離された集団のユニークな遺伝子および分子プロファイルに基づいて試験および／または予想することができる。したがって、開示した腫瘍開始細胞集団は、個別化された癌治療を開発する手段を提供する。
【００４１】
本発明の一態様では、標的分子および／またはシグナル伝達経路を同定するために腫瘍開始細胞の遺伝子および分子の特長を記載する。したがって、本発明はまた、腫瘍開始細胞（濃縮された集団もしくは単離されたもの）、腫瘍開始細胞から抽出したポリヌクレオチド、または腫瘍開始細胞から抽出したタンパク質が直接または間接的に結合した、固相、たとえば表面を含有する、アレイまたはマイクロアレイも提供する。開示した腫瘍開始細胞集団に対して産生させたモノクローナルおよびポリクローナル抗体を、標準の技法を用いて作製し得る。腫瘍開始細胞の標的分子、および腫瘍開始細胞と特異的に結合する薬剤の同定は、大多数の非腫瘍原性細胞を標的とする現在の戦略を補足し、向上させるであろう。
【００４２】
また、腫瘍開始細胞のゲノムＤＮＡのマイクロアレイを一塩基多型（ＳＮＰ）についてプローブして、細胞が前癌性または腫瘍原性となることを引き起こす遺伝子突然変異の部位を位置決定することもできる。また、腫瘍開始細胞の遺伝子および／または分子プロファイルを患者の予後診断にも使用し得る。たとえば、治療の失敗を予測する癌による死のサインを記載している、Ｇｌｉｎｓｋｙら、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．、２００５、１１５（６）：１５０３～１５２１を参照されたい。
【００４３】
本発明の別の態様では、抗癌薬または候補抗癌薬の有効性は、単離された腫瘍開始細胞を試験化合物と接触させ、その後、本明細書中に記載した腫瘍開始細胞の特性の変化についてアッセイすることによって、試験することができる。たとえば、治療的組成物を培養中の腫瘍開始細胞に様々な用量で施用することができ、これらの細胞の応答を様々な時間で監視する。これらの細胞の物理的特徴は、細胞を顕微鏡観察によって観察することによって分析することができる。誘発された、または他の様式で変更された、核酸およびタンパク質の発現は、当分野で知られているように、たとえば、核酸のレベルをアッセイするためのハイブリダイゼーション技法およびポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）増幅、免疫組織化学、酵素的アッセイ、受容体結合アッセイ、酵素連結免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、電気泳動分析、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）を用いた分析、ウエスタンブロット、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣｓ）などを用いて評価することができる。
【００４４】
腫瘍開始細胞の腫瘍形成能を阻害または減少させる治療的化合物の能力は、腫瘍開始細胞を試験化合物と接触させ、応答に十分な期間を与え、その後、腫瘍開始細胞の成長をｉｎ　ｖｉｔｒｏで評価することによって、試験することができる。あるいは、試験化合物

に曝したあと、腫瘍開始細胞を宿主動物内に移植することができる（すなわち、異種移植モデルの準備であり、その後、これを腫瘍増殖、癌細胞のアポトーシス、動物の生存などについて監視する）。さらに別のスクリーニング様式では、試験化合物を異種移植宿主動物（すなわち、腫瘍開始細胞および／または生じた腫瘍を保有する動物）に投与する。アッセイし得るさらなる表現型には、細胞生存度、増殖速度、再生能力、および腫瘍開始細胞もしくは生じた非腫瘍原性癌細胞の細胞周期分布、または治療的結果に関連する任意の他の表現型が含まれる。

【００４５】

試験化合物には、既知の薬物および候補薬物、たとえば、ウイルス、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質、炭水化物、核酸、抗体、プロドラッグ、小分子（たとえば化学物質）、または、効果が有害、有益、もしくは他の様式であるかに関わらず、腫瘍細胞に対して効果を有し得る任意の他の物質が含まれる。試験化合物には、それだけには限定されないが、２，２’，２’’－トリクロロトリエチルアミン、２－エチルヒドラジド、２－ピロリノ－ドキソルビシン、５－ＦＵ（５－フルオロウラシル）、６－アザウリジン、６－ジアゾ－５－オキソ－Ｌ－ノルロイシン、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、カンプトテシン、サルコジクチン、ＡＢＲＡＸＡＮＥ（登録商標）、ＡＢＴ－５１０（Ａｂｂｏｔｔ　Ｌａｂｓ）、アセグラトン、アセトゲニン、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、ＡＤＲＩＡＭＹＣＩＮ（登録商標）、ＡＧ１４７８、ＡＧ１５７１（ＳＵ５２７１、Ｓｕｇｅｎ）、アルドホスファミドグリコシド、アルトレタミン、アミノグルテチミド、アミノレブリン酸、アミノプテリン、アムサクリン、アンシタビン、アンドロゲン、アンジオスタチン（ＥｎｔｒｅＭｅｄ）、Ａｎｇｉｚｙｍｅ（ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、アングイジン、代謝拮抗剤、アラビノシド（「Ａｒａ－Ｃ」）、アウスラマイシン、アザシチジン、アザセリン、アジリジン、ベンゾドーパ、ベストラブシル、ベバシズマブ、ベバシズマブ（ＡＶＡＳＴＩＮ（登録商標）Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ベキサロテン、ビサントレン、ブレオマイシン、ＢＭＳ－２７５２９１（Ｂｒｉｓｔｏｌ　Ｍｙｅｒｓ　Ｓｑｕｉｂ）、ボルテゾミブ（ＶＥＬＣＡＤＥ（登録商標）Ｍｉｌｌｅｎｉｕｍ　Ｐｈａｒｍ．）、ブリオスタチン、ブスルファン、カクチノマイシン、カリスタチン、カルステロン、カペシタビン、カラビシン、カルボプラチン、カルボコン、カルミノマイシン、カルモフル、カルムスチン、カルジノフィリン、ＣＣ－１０６５、クロラムブシル、クロランブシル、クロルナファジン、クロロゾトシン、コロホスファミド、クロモマイシニス、シスプラチン、Ｃｏｍｂｒｅｓｔａｔｉｎ（Ｏｘｉｇｅｎｅ）、ＣＰＴ－１１、クリプトフィシン、シアノモルホリノ－ドキソルビシン、シクロオキシゲナーゼ－２（ＣＯＸ－２）阻害剤エクシスリンド、シクロホスファミド、シクロスホスファミド、シタラビン、ＣＹＴＯＸＡＮ（登録商標）、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノマイシン、ダウノルビシン、デフォファミン、デメコルシン、デオキシドキソルビシン、デトルビシン、ジアジコン、ジデオキシウリジン、ジフルオロメチルオルニチン（ＤＭＦＯ）、ドセタキセル、ドラスタチン、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、プロピオン酸ドロモスタノロン、デュオカルマイシン、エダトラキセート、エダトレキサート、エリュテロビン、エルフォルミチン、酢酸エルプチニウム、エネジイン抗生物質、エニルウラシル、エノシタビン、エピルビシン、エピチオスタノール、エルロチニブ（ｔａｒｃｅｖａ）、エルロチニブ（ＴＡＲＣＥＶＡ（登録商標）Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ／ＯＳＩ　Ｐｈａｒｍ．）、エソルビシン、エストラムスチン、エチレンイミン、エトグルシド、エトポシド、エトポシド（ＶＰ－１６）、フロキシウリジン、フルダラビン、デノプテリンなどの葉酸類似体、フロリン酸などの葉酸補充剤、フォテムスチン、、フルベストラント（ＦＡＳＬＯＤＥＸ（登録商標）ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ガシトシン、硝酸ガリウム、ゲフィチニブ（ＩＲＥＳＳＡ（登録商標）ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ＧＥＭＺＡＲ（登録商標）（ゲムシタビン）、ヒドロキシ尿素、イバンドロネート、イダルビシン、イホスファミド、メシル酸イマチニブ（ＧＬＥＥＶＥＣ（登録商標）Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、インプロスルファンおよびピポスルファン、イリノテカン、ラパチニブ（ＧＳＫ５７２０１６、レンチナン、レトロゾール（ＦＥＭＡＲＡ（登録商標）Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ロイコボリン、ロムスチン、ロナフ

ァルニブ（ＳＣＨ６６３３６）、ロニダイニン、ロソキサントロン、マンノムスチン、マルセロマイシン、マリマスタット（Ｂｒｉｔｉｓｈ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、メイタンシンおよびアンサミトシンなどのメイタンシノイド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、メピチオスタン、メルカプトプリン、メトトレキサート、メトトレキサートおよび５－フルオロウラシル（５－ＦＵ）、メチラメラミン（ｍｅｔｈｙｌａｍｅｌａｍｉｎｅｓ）、メツレドーパ、ミトブロニトール、ミトグアゾン、ミトラクトール、マイトマイシンＣ、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、モピダンモール、モルホリノ－ドキソルビシン、ミコフェノール酸、ＭＹＬＯＴＡＲＧ（登録商標）（ゲムツズマブオゾガマイシン、Ｗｙｅｔｈ）、ＮＡＶＥＬＢＩＮＥ（登録商標）（ビノレルビン）、Ｎｅｏｖａｓｔａｔ（Ａｅｔｅｒｎａ Ｚｅｎｔａｒｉｓ）、ニムスチン、ニトラエリン、ナイトロジェンマスタード、ノガラマイシン、ｎｏｖａｎｔｒｏｎｅ、ｎｏｖｅｍｂｉｃｈｉｎ、オリボマイシン、またはビノレルビン、ＥＬＯＸＡＴＩＮ（登録商標）（オキサリプラチン、Ｓａｎｏｆｉ）、パクリタキセル、パンクラチスタチン、ペメトレキセド二ナトリウム（ＡＬＩＭＴＡ（登録商標）、ペントスタチン、ペプロマイシン、フェナメット、フェネステリン、ピポブロマン、ピラルビシン、ポドフィリン酸、ポトフィロマイシン、プレドニムスチン、プロカルバジン、プロテアソーム阻害剤、プテロプテリン、ＰＴＫ７８７／ＺＫ２２２５８４（Ｎｏｖａｒｔｉｓ）、ピューロマイシン、クエラマイシン、ラニムヌスチン、ラパマイシン（シロリムス、ＲＡＰＡＭＵＮＥ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、ラゾキサン、レチノイン酸、レチノイド、リゾキシン、ロドルビシン、ロリジンＡ、シゾフラン、ソラフェニブ（ＢＡＹ４３ ９００６、Ｂａｙｅｒ）、スピロゲルマニウム、スポンジスタチン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ＳＵ５４１６、ＳＵ６６６８（Ｓｕｇｅｎ）、スニチニブ（Ｐｆｉｚｅｒ）、ＳＵＴＥＮＴ（登録商標）（ＳＵ１１２４８、Ｐｆｉｚｅｒ）、Ｔ－２毒素、ＴＡＸＯＬ（登録商標）（パクリタキセル、Ｂｒｉｓｔｏｌ－Ｍｙｅｒｓ Ｓｑｕｉｂｂ）、ＴＡＸＯＴＥＲＥ（登録商標）（ドキセタキセル、Ｒｈｏｎｅ－Ｐｏｕｌｅｎｃ Ｒｏｒｅｒ）、テムシロリムス（ＴＯＲＩＳＥＬ（登録商標）、Ｗｙｅｔｈ）、テニポシド、テヌアゾン酸、テストラクトン、抗副腎剤、サリドマイド（Ｃｅｌｇｅｎｅ）、チアミプリン、チオグアニン、チオテパ、トポイソメラーゼ阻害剤ＲＦＳ２０００、トポテカン、トリアジコン、トリコテセン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリロスタン、トリメチロメラミン、トリメトレキセート、トロホスファミド、ツベルシジン、ウベニメックス、ウラシルマスタード、ウレドーパ、ウレタン、ワクチン、ＶＥＧＦ－Ｔｒａｐ（Ｒｅｇｅｎｅｒｏｎ Ｐｈａｒｍ）、ベラキュリンＡ、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシン、ビノレルビン、Ｖｉｔａｘｉｎ ＩＩ（ＭｅｄＩｍｍｕｎｅ）およびシレンギチド（Ｍｅｒｃｋ ＫｇａＡ）、Ｘｅｌｏｄａ、ＺＤ６４７４（ＺＡＣＴＩＭＡ（登録商標）ＡｓｔｒａＺｅｎｅｃａ）、ジノスタチン、ゾルビシン、ならびに上記のうちの任意のものの薬学的に許容できる塩、酸、誘導体および抗体コンジュゲートが含まれる。

【００４６】

上述の応用のうちの任意のもの、または他の応用において使用するために、使用が必要になるまで本発明の腫瘍開始細胞を低温保存し得る。たとえば、細胞を、特定の低温保存剤を含有する等張溶液、好ましくは細胞培地中に懸濁させることができる。そのような低温保存剤には、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、グリセロールなどが含まれる。これらの低温保存剤は、５～１５％、たとえば８～１０％の濃度で使用する。細胞は、－１０℃～－１５０℃、たとえば－２０℃～－１００℃、または－１５０℃の温度まで徐々に凍結させる。

【実施例】

【００４７】

以下の実施例は、本発明の機序を例示するために含めた。以下の実施例の特定の態様は、本発明の実施において良好に機能するように、本発明の共同発明者らによって発見または熟慮された技法および手順に関して記載する。これらの実施例は、共同発明者らの標準

的な実験の実施を例示する。本開示および当分野の一般技術レベルに鑑みて、当業者は、以下の実施例は例示的であることのみを意図し、本発明の範囲から逸脱せずに数々の変化、改変、および変更を用い得ることを理解されたい。

【００４８】

（実施例１）

非小細胞肺癌細胞系を用いたＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$腫瘍開始細胞の単離

Ｈ４６０細胞は、米国バージニア州ＭａｎａｓｓａｓのＡｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ（ＡＴＣＣ）から入手した。Ｈ４６０細胞系は、肺の大細胞癌を有する患者の胸膜腔内液に由来するものである（Ｇａｚｄａｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、１９８９、２４６：４９１～４９４）。ＨＣＣ２４２９細胞はＪ．Ｍｉｎｎａから入手した。Ｈａｒｕｋｉら、Ｊ．Ｍｅｄ．Ｇｅｎｅｔ．、２００５、４２（７）：５５８～６４を参照されたい。Ｈ４６０Ｔ細胞を用いたすべての実験は３７～５１の継代数の細胞で行い、これは、これらの細胞がより低い継代数の細胞よりも頑強な表現型を有することが観察されたためである。最初にＡＴＣＣから入手した低い継代数のＨ４６０と識別するために、より高い継代数の細胞はＨ４６０Ｔと呼ぶ。すべての細胞は、３７℃で、５．０％の二酸化炭素（CO_2）を用いてインキュベーションした。Ｈ４６０Ｔ細胞は、ＲＰＭＩ－１６４０（ＧＩＢＣＯ（登録商標）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、米国カリフォルニア州Ｃａｒｌｓｂａｄから入手可能）中で培養した。Ｍｏｏｒｅら、ＪＡＭＡ、１９６７、１９９：５１９～５２４を参照されたい。１０％のウシ胎児血清（ＦＢＳ、ＧＩＢＣＯ（登録商標）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、米国カリフォルニア州Ｃａｒｌｓｂａｄから入手可能）、２ｍＭのさらなるグルタミン、１００ＩＵ／ｍｌのペニシリン、１００μｇ／ｍｌのストレプトマイシン、１ｍＭのピルビン酸ナトリウム、０．１％の炭酸水素ナトリウム、０．４５％のさらなるグルコース、および１０ｍＭの４－（２－ヒドロキシエチル）－１－ピペラジンエタンスルホン酸（ＨＥＰＥＳ）。ＨＣＣ２４２９細胞を、ＲＰＭＩ－１６４０、１０％のＦＢＳ、２ｍＭのさらなるグルタミン、１００ＩＵ／ｍｌのペニシリン、１００μｇ／ｍｌのストレプトマイシン中で培養した。Ｈ４６０Ｔの核型分析および短いタンデム反復（ＳＴＲ）の分析によりそれがＨ４６０起源であることが確認されたが、Ｙ染色体がＨ４６０Ｔ細胞中には存在せず、ほとんどのＨ４６０細胞中に存在していた。

【００４９】

フローサイトメトリー分析には、細胞を、ＧＩＢＣＯ（登録商標）ＴＲＹＰＬＥ（商標）を用いて収集し、３％の熱不活性化仔ウシ血清（ＨＩＣＳ）を含み、カルシウムおよびマグネシウムを含まないハンクス平衡塩類溶液（ＨＢＳＳ）で洗浄し、１００μｇ／ｍｌのＤＮａｓｅ、５ｍＭの$MgCl_2$および５０μｇ／ｍｌのヒト免疫グロブリン（ＩｇＧ）と共にインキュベーションし、抗体またはアイソタイプ対照と共にインキュベーションし、洗浄し、３％のＨＩＣＳ、２５μｇ／ｍｌのＤＮａｓｅ、１ｍＭの$MgCl_2$、および２５ｍＭのＨＥＰＥＳを含むＨＢＳＳ中に再懸濁させた。異種移植片をペースト様の稠度まで刻み、コラゲナーゼ／ヒアルロニダーゼ（Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、カナダ、ブリティッシュコロンビア州Ｖａｎｃｏｕｖｅｒ）中で１時間、頻繁に混合しながら３７℃の水浴中でインキュベーションし、４０ミクロンのフィルターを通して濾過した。細胞懸濁液を、どちらも製造者の指示に従って、赤血球溶解緩衝液（Ｒｏｃｈｅ Ｄｉａｇｎｏｓｔｉｃｓ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、米国インディアナ州Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、）、続いてＡＣＣＵ－ＰＲＥＰ（登録商標）（Ａｘｉｓ、ノルウェー、Ｏｓｌｏ）で処理した。抗ヒトＣＤ２４（＃５５５４２８）およびＣＤ４４（＃５５９９４２）モノクローナル抗体はＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ（Ｓａｎ Ｊｏｓｅ、米国カリフォルニア州）から入手した。抗５Ｔ４抗体クローンＨ８（ＨｏｌｅおよびＳｔｅｒｎ、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、１９８８、５７（３）：２３９～４６）はＯｘｆｏｒｄ Ｂｉｏｍｅｄｉｃａ、英国Ｏｘｆｏｒｄから入手した。

【００５０】

Ｈ４６０Ｔ ＮＳＣＬＣ細胞系を抗ＣＤ２４および抗ＣＤ４４抗体で標識することで、

長期的な培養にわたって安定した分布を有する明確に区別できる集団が明らかとなった（図１Ａ）。これらの集団を蛍光活性化細胞選別によって分離し、免疫不全ｎｕ／ｎｕマウスに皮下移植した場合、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は迅速に大きな腫瘍を形成した一方で、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞はゆっくりと小さな腫瘍を形成した（ｐ＜０．００１、図１Ｂ～１Ｃ）。また、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は第３の集団、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４^{低}よりも大きな腫瘍を形成した（ｐ＜０．０２、図１Ｄ）。これらの研究は、ＣＤ２４$^{－／低}$およびＣＤ４４$^{＋}$がＨ４６０Ｔ中で腫瘍形成能を濃縮させることを実証している。

【００５１】

ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、いくつかのさらなるアッセイにおいてＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞と表現型が明確に異なる。第１に、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、三次元培養においてスフェロイドとしてＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞よりも迅速に成長した（ｐ＜０．００１、図１Ｅ）。二次元培養では集団間で増殖速度、細胞周期プロファイル、または細胞の大きさの差は検出されなかった。

【００５２】

第２に、集団は、進行した腎細胞癌の処置に最近認可されたラパマイシン類似体であるｍＴＯＲ阻害剤ＣＣＩ－７７９に対して示差的応答を示した（Ｆａｉｖｒｅら、Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｄｒｕｇ　Ｄｉｓｃｏｖ．、２００６、５：６７１～６８８）。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞よりもＣＣＩ－７７９に対して５～１０倍高い耐性を有していた（図１Ｆ）。対照的に、集団はカンプトテシン、５－フルオロウラシル、および電離放射線に対して同等に応答し、これは、ＣＣＩ－７７９に対する示差的応答が特異的であったことを示す。

【００５３】

第３に、トランスウェル遊走アッセイおよびスフェロイド成長アッセイを用いて示したように、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞はＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞よりも効率的に遊走した。トランスウェル遊走アッセイを行うために、終夜、成長培地中で培養した細胞を選別し、その後、２４時間血清飢餓させた。５００，０００個の細胞／ウェルを、８．０ミクロン孔の２４ｍｍ直径のトランスウェル中の無血清培地に播種した。血清を含むまたは含まない培地を外チャンバに加え、細胞を１６～１８時間インキュベーションした。細胞を最初にホルムアルデヒドで固定し、クリスタルバイオレットで染色した。外チャンバまで遊走した細胞を顕微鏡下で計数できるように、細胞を、湿ったおよび乾いた綿棒（Ｑ－ｔｉｐ）で内チャンバから注意深く擦り取った。８～１０個のフィールド／ウェルを計数した。このアッセイを用いて、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、血清依存性の様式でＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞よりも２．５倍効率的に遊走した（ｎ＝４、図１Ｇ）。スフェロイド成長アッセイを行うために、５ｍｌの培地中の１００，０００個の選別した細胞を、５ｍｌの組織培養グレードの寒天（０．７％）で事前にコーティングした６０ｍｍのポリスチレン細胞培養皿上に、培地中で播種した。皿を５日間、３７℃でインキュベーションした。直径０．２ｍｍを有するスフェロイドを選択し、フィブロネクチンでコーティングしたスライド（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）上に置いた。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$スフェロイドでは、フィブロネクチンでコーティングしたスライドを横切る細胞の遊走が、２４時間および続く時点で明らかであったが、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$スフェロイドでは、細胞の遊走はわずかしか観察されなかったまたは観察されなかった（図１Ｈ）。この実験の３日間の期間にわたってスフェロイドの成長速度に差異はなかった。

【００５４】

Ｈ４６０Ｔの腫瘍開始集団も幹細胞様特徴を保有していたかどうかを決定するために、選別した細胞を培養物中で維持し、フローサイトメトリーによって定期的に監視した。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、選別の早くも３日後には明らかなＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞の有意な集団を常に生じた（図２Ａ）。対照的に、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、選別の２カ月後の最終時点までＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$に保たれた（図２Ａ）。これらの結果は腫瘍開始細胞の多能性の表現型を示した。観察された移行が親系の状況で起こるかどう

かを決定するために、標識したおよび標識していない集団を同時培養した。ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞と共に同時培養した場合は、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞も多能性であり（図３Ａ～３Ｃ）、これは、多能性の表現型が親Ｈ４６０Ｔの培養物中に存在することを示唆している。また、多能性はｉｎ　ｖｉｖｏでも観察され、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞から成長させた異種移植片は、典型的には約５０％のＣＤ２４^{高}細胞を含有していた（図２Ｂ）。

【００５５】

多能性を単一の細胞レベルで追跡できることを確認するために、クローン分析を行った。単一のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$またはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞のコロニーをクローン系へと拡大した。ほとんど（２３／３１個）のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$由来のクローン系は＞１０％のＣＤ２４^{高}細胞を含有していたが（「移行中のクローン」）、一部（８／３１個）は＜１％のＣＤ２４^{高}細胞を含有していた（「安定したクローン」）。すべて（６／６個）のＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$由来のクローン系は１００％のＣＤ２４^{高}細胞を含有していた（図２Ｃ）。選別した親系の上記結果と一致して、すべての試験したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$クローン系の選別したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞は腫瘍原性が高かった一方で、すべての試験したＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$クローン系の選別したＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞は小さな腫瘍を形成したまたは腫瘍を形成しなかった（図２Ｄ）。

【００５６】

ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞がＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞と比較して低下した腫瘍形成能を示すかどうかを試験するために、移行中のＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$クローン系をＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞へと選別し、選別した細胞を動物内に移植した。３つのクローン系において、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞はＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞よりも大きな腫瘍を形成した（クローン２４Ｎ－４では$p<0.005$、クローン２４Ｎ－１０では$p=0.01$、クローン２４Ｎ－２５では$p<0.05$、図２Ｅ）。３つの他のクローン系では有意な差異は観察されなかった。したがって、Ｈ４６０ＴのＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞は、より低い腫瘍原性の、機能的に明確に区別できるＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞を生じさせることができる。これらの結果は、Ｈ４６０Ｔ中の多能性腫瘍開始細胞の存在を実証している。

【００５７】

他のＮＳＣＬＣ細胞系を、ＣＤ２４およびＣＤ４４に関して不均質性について評価した。ＨＣＣ２４２９系（Ｄａｎｇら、Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔ．、２０００、９２、１３５５～１３５７）は、２つの明確に区別できるＣＤ２４集団、ＣＤ２４$^{－／低}$およびＣＤ２４^{高}を含有していた（図４Ａ）。ＦＡＣＳで単離したＣＤ２４$^{－／低}$細胞はＣＤ２４^{高}細胞よりも有意に大きな腫瘍を形成した（$p<0.05$、図４Ｂ）。さらに、ＣＤ２４$^{－／低}$細胞は培養物中でＣＤ２４^{高}細胞を生じさせた一方で、ＣＤ２４^{高}細胞はＣＤ２４^{高}のままであった（図４Ｃ）。

【００５８】

（実施例２）

非小細胞肺癌細胞系における５Ｔ４$^{+}$腫瘍開始細胞の同定

ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$とＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞との間の表現型の差異の根底にあるであろう遺伝子を同定するために、遺伝子発現プロファイルをＦＡＣＳで単離した集団の３つ組試料から作成した。予想どおり、ＣＤ２４のｍＲＮＡレベルはＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞で常に高く、ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞で低かった（図５）。５Ｔ４（ＴＰＢＧとしても知られる）のレベルは、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{+}$細胞と比較してＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{+}$細胞で４．５倍高かった（図６Ａ）。

【００５９】

成長および分化の条件下での５Ｔ４の発現を決定するために、細胞をいくつかの時点で収集し、タンパク質抽出物を免疫ブロット分析に供した。細胞をＰＢＳで洗浄し、２５ｍＭのトリス緩衝生理食塩水、ｐＨ７．４（ＴＢＳ）中の０．５％ｖ／ｖのＮＰ４０で溶解した。タンパク質の推定の後（ＭＩＣＲＯＢＣＡ（商標）タンパク質アッセイキット、Ｐ

ｉｅｒｃｅ、米国イリノイ州Ｒｏｃｋｆｏｒｄ）、溶解物を非還元Ｌａｅｍｍｌｉ試料緩衝液（Ｂｉｏｒａｄ、米国カリフォルニア州Ｈｅｒｃｕｌｅｓ）と混合し、１０μｇの試料を、非還元の４～２０％のポリアクリルアミド勾配ゲル（ＮＯＶＥＸ（登録商標）、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、米国カリフォルニア州Ｃａｒｌｓｂａｄから入手可能）のそれぞれのウェルに載せた。試料を２～３時間、１２５ボルトで流し、Ｎｏｖｅｘ（登録商標）電気泳動移行システムによってＰＶＤＦ（ポリフッ化ビニリデン）膜に移した。膜を、終夜、１％のヤギ血清を含むトリス緩衝生理食塩水Ｔｗｅｅｎ－２０（ＴＢＳＴ）中の５％の乳で遮断し、ＴＢＳＴ中の５％の乳中に１μｇ／ｍｌの抗５Ｔ４抗体Ｈ８でプローブし、洗浄し、１：５，０００の希釈率のＨＲＰコンジュゲートヤギ抗ｍｕＩｇＧでプローブした。ＥＣＬ検出システムを使用した（Ａｍｅｒｓｈａｍ、米国マサチューセッツ州Ｂｕｒｌｉｎｇｔｏｎ）。抗５Ｔ４抗体を用いた免疫ブロット分析により、$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞中では５Ｔ４タンパク質の発現が示されたが、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞では示されなかった（図６Ｂ）。

【００６０】

抗５Ｔ４および抗ＣＤ２４抗体を用いた親Ｈ４６０Ｔの免疫蛍光により、５Ｔ４およびＣＤ２４の染色は排他的であり、$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞のほぼすべても５Ｔ４を発現していたことが実証された。５Ｔ４は実施例１に記載した$CD24^{-/低}CD44^{+}$クローン系のすべてで発現されていた。

【００６１】

腫瘍細胞系における５Ｔ４発現をさらに評価するために、選別した細胞をオールトランス型レチノイン酸で処理して分化を誘発させ、その後、免疫ブロット分析に供した。選別した細胞はＦＡＣＳによって得られ、それぞれの免疫表現型の2.3×10^{5}個の細胞を、６ウェルの皿に、完全な成長培地中で播種した。２４時間後、培地を除去し、細胞をＰＢＳで２回洗浄し、０．５％のＦＢＳ成長培地を再度与えた。培地を２４時間後に除去し、ビヒクル対照または１０μＭのオールトランス型レチノイン酸（Ｓｉｇｍａ、米国ミズーリ州Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ）と添加した０．５％のＦＢＳ成長培地で置き換えた。細胞を７２時間培養し、ＰＢＳで洗浄し、抗５Ｔ４ウエスタンブロット分析のために１×Ｌａｅｍｍｌｉ緩衝液（Ｂｉｏ－Ｒａｄ、米国カリフォルニア州Ｈｅｒｃｕｌｅｓ）中で直接溶解した。５Ｔ４発現は処理した$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞中で劇的に低下しており（図６Ｂ）、これは、５Ｔ４が、癌細胞において未分化状態に関連していることを示している。

【００６２】

（実施例３）

非小細胞肺癌の初代培養物における腫瘍開始細胞の分化モデル

初代無血清培養物を新しく切除したＮＳＣＬＣ試料から確立した。細胞を、自己複製を促進する条件下で培養したか、または、レチノイン酸の存在下で気液界面に曝すことによって分化を誘発させた。気液界面は肺細胞の生理的環境であるとみなされ、胎児の肺発生の研究に使用されている（Ｖａｕｇｈａｎら、Ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｉｏｎ、２００６、７４：１４１～１４８）。このモデルを用いて分化を誘発するために、培養物を以下のように調製および処理した。Ｍｉｌｌｉｃｅｌｌの１μＭのＰＥＴハンギング細胞培養挿入物（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、米国マサチューセッツ州Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ）を６ウェルの皿の内部に入れた。膜をリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）で事前に湿らせ、８７４２６Ａ１腫瘍組織から得た2.5×10^{5}個の初代細胞をそれぞれの挿入物上に播種し、ＢＥＢＭ培地で満たした。１～２日後、培地を上部および下部のチャンバから除去し、ＰＢＳですすぎ、５０ｎＭのレチノイン酸および１ｍＭの$CaCl_{2}$を含有するＣｎＴ－２３培地（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ、米国マサチューセッツ州Ｂｉｌｌｅｒｉｃａ）を下部のチャンバに加え戻し、上部チャンバ中の細胞は空気に曝されたままにした。持ち上げられた培養物は、２日毎に新鮮な培地を加えたか、または示した時点でＲＮＡ単離用には緩衝液ＲＬＴ（ＱＩＡＧＥＮ、米国カリフォルニア州Ｖａｌｅｎｃｉａ）中で、もしくは抗５Ｔ４ウエスタンブロット分析用にはＴＢＳ（トリス緩衝生理食塩水）／０．５％ＮＰ４０（ター

ジトール型ＮＰ－４０、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ、米国ミズーリ州Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ）中で収集した。遺伝子発現プロファイリングには、同型成長の試料を一緒に分析し、限られた試料のため、８、１６、および２４日目の分化試料をプールして一緒に分析した。生細胞のイメージングにより、単層培養物が、気液界面および５０ｎＭのレチノイン酸に１８日間曝された後に３Ｄ重層の上皮を効率的に形成したことが明らかとなった（図７Ａ）。

【００６３】

成長および分化の条件下での５Ｔ４の発現を決定するために、細胞をいくつかの時点で収集し、実施例２に記載のようにタンパク質抽出物を免疫ブロット分析に供した。５Ｔ４のレベルは成長条件下で高く、分化の際に急速かつ劇的に減少した（図７Ｂ）。

【００６４】

この分化モデルの包括的な見解を得るために、実験を繰り返し、遺伝子発現プロファイルを成長および分化の条件下で細胞から作成した。実施例５および６を参照されたい。上記結果と一致して、分化中に５Ｔ４発現は減少し、ＣＤ２４発現は増加した（図７Ｃ）。また、成長および分化における初代培養物の遺伝子発現プロファイルを、Ｈ４６０Ｔ　ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$およびＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$集団のそれとも比較した（実施例５を参照）。初代培養物の分化中により高いレベルで発現された遺伝子の顕著な画分は、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞中でもより高いレベルで発現された（ＦＤＲ＝０．００１５）。Ｈ４６０Ｔおよび８７４２６のデータ組の統計的な比較には、分化した８７４２６培養物中でアップレギュレートされていた上位２５０個の遺伝子をＨ４６０Ｔ集団中で比較した。図７Ｄは、Ｈ４６０Ｔデータ組においてノイズレベルを超える遺伝子の発現の差異を示す。統計的分析により偽発見率０．００１５が得られた。この分析は、これらの非常に異なる実験系がＮＳＣＬＣにおける分化階層の生理的モデルであることを示す。マイクロアレイのデータはフローサイトメトリーによって確認された（図７Ｅ～７Ｆ）。

【００６５】

また、発現プロファイルにより、上皮－間葉の移行および血管形成に関与する遺伝子の著しいパターンも明らかとなった。上皮－間葉の移行のマーカーであるビメンチン、フィブロネクチン、Ｓｌｕｇ、およびＴｗｉｓｔは、分化状態と比較して成長条件下において高レベルで発現されていた（図７Ｃ）。対照的に、上皮マーカーであるムチンおよびいくつかのサイトケラチンは、成長条件と比較して分化中に高レベルで発現されていた（図７Ｃ）。血管形成因子ＶＥＧＦ－Ａ、－Ｂ、－Ｃ、ＰＤＧＦ－Ａおよび－Ｃ、ならびにＰＩＧＦは、分化と比較して成長条件下で有意により高いレベルで発現されていた（図７Ｇ）。

【００６６】

発現データのバイアスのないメタ分析により、分化中に有意な発現変化を有するいくつかの遺伝子サインが明らかとなった（表１）。未分化の細胞中でより高い発現を有する遺伝子組には、臨床的予後不良、幹細胞、発癌性シグナル伝達、および発達シグナル伝達のサインが含まれていた。分化した細胞中でより高い発現を有する遺伝子組には、より良好な臨床的予後、分化した腫瘍、および分化した細胞のサインが含まれていた。この分析で使用したＢｒｏａｄ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅの分子サイン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｓｉｇｎａｔｕｒｅｓ）データベースの情報を表２に示し、これには表１で同定した遺伝子組のそれぞれについての遺伝子（メンバー）のリストが含まれる。表１中のすべてのＮＴｋは偽発見率（ＦＤＲ）≦０．０１である。ＮＴｋ＞０は分化した初代培養物との直接の対応を示す。ＮＴｋ＜０は分化した初代培養物との逆の対応を示す。

【００６７】

【表１－１】

表１
NSCLCの初代無血清培養物の分化中に有意な変化を有する遺伝子組

遺伝子組－標準名[1] さらなる記述	NTk[2]
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP 良好な生存を有するHCCで上昇	3.816
LIZUKA_G1_GR_G2 良好対中等度に分化したHCC中で濃縮	3.844
IDX_TSA_UP_CLUSTER5 3T3-L1から脂肪細胞への分化中に上昇	4.515
ADIP_DIFF_UP 3T3-L1から脂肪細胞への分化中に上昇	4.384
TISSUE_DEVELOPMENT 遺伝子オントロジーターム	4.182
EPIDERMIS_DEVELOPMENT 遺伝子オントロジーターム	7.495
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM 遺伝子オントロジーターム	4.153
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION 遺伝子オントロジーターム	11.11
ECTODERM_DEVELOPMENT 遺伝子オントロジーターム	6.949
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION 遺伝子オントロジーターム	6.661
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN 予後不良のマーカー遺伝子	-5.368
BRCA_PROGNOSIS_NEG 予後不良に関連したより高い発現	-4.922
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN HCC中で発現し生存率不良	-8.651
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN 胎児腎臓対ウィルムス腫瘍中で低下	-7.394
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER SCLCに関与する遺伝子	-5.451
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF ALLの微小残存病変に関連	-4.529
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP メタ分析:正常組織に対する腫瘍	-4.754
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP メタ分析:未分化の癌中でアップレギュレート	-7.089
STEMCELL_COMMON_UP マウスESC、HSC、NSC中で濃縮	-4.524
BHATTACHARYA_ESC_UP 未分化のhESC中でアップレギュレート	-4.198
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	-4.33
IDX_TSA_DN_CLUSTER2 3T3-L1の分化中に低下	-5.681
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN hMSCの脂肪細胞への分化中に低下	-4.235

【００６８】

【表１－２】

CTNNB1_oncogenic_signature 活性ベーターカテニンを発現する細胞	-4.174
WNT_TARGETS 文献から	-4.321
TGFBETA_C4_UP 線維芽細胞のTGFb処理によって上昇	-7.326
TGFBETA_EARLY_UP TGFb後に皮膚線維芽細胞中で上昇(初期)	-4.085
TGFBETA_ALL_UP 線維芽細胞のTGFb処理によって上昇、任意の時点	-6.334
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE H-rasを発現する細胞	-8.879
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE c-Srcを発現する細胞	-3.904
SCHUMACHER_MYC_UP P493-6 B細胞中でmycによってアップレギュレート	-4.02
IGF1_NIH3T3_UP NIH3T3-IGF1RのIGF1処理後に上昇	-4.25
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE 様々なヒト線維芽細胞系由来	-5.821
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP 様々なヒト線維芽細胞系の血清中で上昇	-8.071
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	-7.01
OLDAGE_DN 若齢と比較して高齢の線維芽細胞で低下	-4.00
P21_P53_ANY_DN 異所性のp21発現、p53依存性の変化、任意の時点	-6.411
P21_P53_EARLY_DN 異所性のp21発現、p53依存性の変化、初期の時点	-4.149
P21_P53_MIDDLE_DN 異所性のp21発現、p53依存性の変化、中間の時点	-4.743
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	-8.649
MENSE_HYPOXIA_UP HeLaおよび星細胞において低酸素症で誘発される	-8.337
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION 遺伝子オントロジーターム	-5.054
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION 遺伝子オントロジーターム	-4.391

[1]Broad Instituteの分子サインデータベース中の標準名。

[2]NTk、正規化したt統計量。

【００６９】

【表２－１】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:786	ヒト
LIZUKA_G1_GR_G2	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:796	ヒト

【００７０】

【表２－２】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP		SEQ_ACCESSION	c2
LIZUKA_G1_GR_G2		SEQ_ACCESSION	c2

【００７１】

【表２－３】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP	Yujin Hoshida	Broad Institute	肝細胞癌中で高度に発現される遺伝子であり、生存は良好である。
LIZUKA_G1_GR_G2	Yujin Hoshida	Broad Institute	中等度に分化したものに対して良好に分化した肝細胞癌中で高度に発現される遺伝子

【００７２】

【表２－４】

標準名	完全な説明
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP	
LIZUKA_G1_GR_G2	AB-高密度オリゴヌクレオチドアレイを用いて、本発明者らは、陽性C型肝炎ウイルス(HCV)の血清学(良好に(G1)、中等度に(G2)および不良に(G3)分化した腫瘍)を有する50個の肝細胞癌(HCC)試料中の12600個の遺伝子、ならびにHCV感染を有するおよび有さない11個の非腫瘍性肝臓(L1およびL0)の発現レベルを包括的に分析した。本発明者らは、教師あり学習方法を用いて移行の識別力のある遺伝子(L0対L1L1対G1G1対G2G2対G3)を検索し、その後、識別力のある遺伝子組を用いて試料を自己組織化マップ(SOM)によって配置した。SOMは、5個のクラスターをユニークなS字型曲線上にL0、L1、G1、G2、およびG3の順序で配置した。試料の配置は、p53異常性などのHCCの発生関連の特長を再現している。驚くことに、静脈侵襲を有さないG2腫瘍はG1クラスターのより近くに位置しており、静脈侵襲を有するほとんどのG2腫瘍はG3クラスターのより近くに位置していた(フィッシャーの正確検定によってP=0.001)。本発明者らの本プロファイリングデータは、HCCの発生と脱分化との間の関係性を理解するためのフレームワークとして役割を果たす。

【００７３】

【表２－５】

標準名	メンバー
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP	DIO1, EPHX1, KHK, FLJ14665, F13B, SERPIND1, CES3, PRO0800, ACADS, HYAL1, HADH2, MST1, CYP4F11, ABCA6, FLJ22578, PKLR, SLC25A10, CABC1, DKFZp434F2, MGC35366, GLYAT, FLJ10851, RHBG, SLC27A5, INSR, VPREB1, MASP2, ALAS1, CGR11, RNF29, LOC162427, AQP9, BDH, FHR5, C1QTNF4, MUCDHL, CCL16, TIP120B, LOC339263, RODH, ABCG5, ALS2CR19, RBP5, NDRG2, BAAT, LOC94431, FTHFD, AOX1, HAGH, DGAT2L1, MTSS1, FLJ22195, LOC149703, TTBK1, SELENBP1, CYP2J2, KLK3, MGC15419, AMFR, NF1, UGT1A6, WBSCR14, CRYL1, TTPA, F12, MRPL46, APOA5, KIAA0977, HPD, STARD10, RAB-R, LOC91614, GJB1, PNUTL2, KIAA0888, LOC155066, E2IG4, SERPINF1, C4BPB, ALDH4A1, FLJ10948, RGN, ECHS1, CUTL2, FLJ13941, LEAP-2, C20orf166, F10, CPN2, PC, LOC158402, LPIN1, LOC51204, HAO1, DSG1, NDUFS2, ZNF297, ZNF288, CPB2, APCS, ITPR2, ABHD6, AGL, FACL6, FACL2, NLG1, CDO1, UGT2B15, IL6R, MGC23940, SLC38A3, P8, NECAB2, SLC2A2, FLJ34658, PCK1, SLC22A1L, CES1, FLJ12331, FLJ14146, ABCG8, SERPING1, EHHADH, ANXA9, TRAG3, SALL1, ITIH1, MSRA, ZP3, RPIB9, DCXR, ASGR1, OTC, G6PC, APOC3, SERPINC1, LR8, MYRIP, ABCC2, PCCB, PRDX6, MAP4K1, ENPP5, CPT2, HGD, PRO0195, C2, PRKWNK3, FLJ10035, ACF, IVD, PIPOX, SDR1, PACE4, PLEKHE1, HSA250839, PINK1, FLJ20581, UGT2B4, CYP2D6, NX17, ACOX2, SEC14L2, ALTE, CES2, SPINK2, CABIN1, SULT2A1, SRD5A1, MPDZ, CYP3A4, AMT, PAH, KNG, SGPL1, RDH5, FMO3, SLC6A12, INSIG1, USH3A, FACL1, PCYT2, WNT11, EGLN2, SLC35D1, FLJ30679, PPAP2A, AR, UNKL, MGC24039, MVK, CRAT, DPYS, AMACR
LIZUKA_G1_GR_G2	M87434, M12963, W28281, M97936, L07633, AA883502, AB007447, Z99129, M97935, D50312, U07364, AI625844, AF061258

【００７４】

【表２－６】

標準名	メンバー記号化
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP	DIO1, EPHX1, KHK, FLJ14665, F13B, SERPIND1, CES3, PRO0800, ACADS, HYAL1, HADH2, MST1, CYP4F11, ABCA6, FLJ22578, PKLR, SLC25A10, CABC1, DKFZp434F2, MGC35366, GLYAT, FLJ10851, RHBG, SLC27A5, INSR, VPREB1, MASP2, ALAS1, CGR11, RNF29, LOC162427, AQP9, BDH, FHR5, C1QTNF4, MUCDHL, CCL16, TIP120B, LOC339263, RODH, ABCG5, ALS2CR19, RBP5, NDRG2, BAAT, LOC94431, FTHFD, AOX1, HAGH, DGAT2L1, MTSS1, FLJ22195, LOC149703, TTBK1, SELENBP1, CYP2J2, KLK3, MGC15419, AMFR, NF1, UGT1A6, WBSCR14, CRYL1, TTPA, F12, MRPL46, APOA5, KIAA0977, HPD, STARD10, RAB-R, LOC91614, GJB1, PNUTL2, KIAA0888, LOC155066, E2IG4, SERPINF1, C4BPB, ALDH4A1, FLJ10948, RGN, ECHS1, CUTL2, FLJ13941, LEAP-2, C20orf166, F10, CPN2, PC, LOC158402, LPIN1, LOC51204, HAO1, DSG1, NDUFS2, ZNF297, ZNF288, CPB2, APCS, ITPR2, ABHD6, AGL, FACL6, FACL2, NLG1, CDO1, UGT2B15, IL6R, MGC23940, SLC38A3, P8, NECAB2, SLC2A2, FLJ34658, PCK1, SLC22A1L, CES1, FLJ12331, FLJ14146, ABCG8, SERPING1, EHHADH, ANXA9, TRAG3, SALL1, ITIH1, MSRA, ZP3, RPIB9, DCXR, ASGR1, OTC, G6PC, APOC3, SERPINC1, LR8, MYRIP, ABCC2, PCCB, PRDX6, MAP4K1, ENPP5, CPT2, HGD, PRO0195, C2, PRKWNK3, FLJ10035, ACF, IVD, PIPOX, SDR1, PACE4, PLEKHE1, HSA250839, PINK1, FLJ20581, UGT2B4, CYP2D6, NX17, ACOX2, SEC14L2, ALTE, CES2, SPINK2, CABIN1, SULT2A1, SRD5A1, MPDZ, CYP3A4, AMT, PAH, KNG, SGPL1, RDH5, FMO3, SLC6A12, INSIG1, USH3A, FACL1, PCYT2, WNT11, EGLN2, SLC35D1, FLJ30679, PPAP2A, AR, UNKL, MGC24039, MVK, CRAT, DPYS, AMACR
LIZUKA_G1_GR_G2	STAT1, UBE2L6, PDLIM5, KCNJ4, OAS2, PSME1, ADH1C, GABARAPL1, TRAFD1, HSF2, LOC201229, KCNJ8

【００７５】

【表２－７】

標準名	PMID	著者
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_UP		
LIZUKA_G1_GR_G2	15710396	Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Mori N, Tamesa T, Okada T, Takemoto N, Sakamoto K, Hamada K, Ishitsuka H, Miyamoto T, Uchimura S, Hamamoto Y

【００７６】

【表２－８】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1507	マウス

【００７７】

【表２－９】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
IDX_TSA_UP_CLUSTER5		GENE_SYMBOL	c2

【００７８】

【表２－１０】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	L2L John Newman	Washington University	分化を防止するためにIDX+TSAで処理した線維芽細胞(クラスター5)に対して、IDX(インスリン、デキサメタゾンおよびイソブチルキサンチン)を用いた3T3-L1線維芽細胞から脂肪細胞への分化中の48～96時間目でアップレギュレート

【００７９】

【表２－１１】

標準名	完全な説明
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	AB-細胞の分化および発生中、前駆細胞が所定の系統に向かうように指示する際に、多くの複雑な分子機構および示差的に発現される遺伝子の正確なパターンが起こることが理解されている。マイクロアレイに基づいた技術を用いて、本発明者らは、3T3-L1脂肪細胞の分化の過程における遺伝子発現を検査した。全細胞RNAを、分化の標準のホルモン誘導剤であるインスリン、デキサメタゾン、イソブチルメチルキサンチン(IDX)、またはIDX+トリコスタチンA(TsA)、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤および強力な脂肪生成阻害剤のどちらかで処理した0、2、8、16、24、48および96時間後の時点で単離した。cRNAを細胞RNAから合成し、12488個のcDNA/発現配列タグ(EST)プローブ組を含有する高密度Affymetrix MG_U74Av2マイクロアレイ遺伝子チップにハイブリダイズさせた。IDXのみで処理した細胞から、0時点の前脂肪細胞に対して分化の全体にわたって変化なしまたは2倍未満で示差的に発現されたすべてのプローブ組を、さらなる分析から排除した。この選択の結果、正味1686個の転写物のうち、859個は発現が増加し、827個は分化にわたって発現が少なくとも2倍減少した。分化に対してより特異的な遺伝子に焦点と当てるために、同じ分析をIDX+TsAで処理した非分化細胞で行い、非分化のTsAで処理した群中で同様の発現プロファイルを示した、IDXのみの群からのすべてのプローブ組を排除して、分化条件下でのみ調節された合計1016個の転写物が残った。0時点の前脂肪細胞に対して、これらの転写物のうちの636個は発現が少なくとも2倍上昇しており、380個は発現の減少を示した。この遺伝子群を、階層的クラスタリングおよび自己組織化マップを用いてさらに分析して、脂肪細胞の分化中に調節されることが以前は知られていなかった数々の遺伝子の同定がもたらされた。これらの遺伝子の多くが、新規の脂肪生成媒介因子および脂肪生成マーカーとなる可能性が十分にある。

【００８０】

【表２－１２】

標準名	メンバー
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	MAPK6, TALDO1, RREB1, RASD1, PHB, PEX14, USMG5, BCL2L13, ACSL1, C20ORF45, C18ORF8, TYSND1, FAM82C, MKNK2, PTGES2, CHP, NDUFB10, C22ORF13, GYS1, C2ORF7, PHB2, LOC642393, GPHN, LOC440567, ABHD5, MRPL34, COX6A1, COX4NB, IFNGR1, JAGN1, COQ9, C6ORF72, RPP14, C3, GK, PRPS1, HBLD1, SIPA1, PIM3, G6PD, GPI, TBL2, DBI, AK2, XBP1, GNPAT, CBR3, TIMM8A, SLC5A6, TXNDC14, TIMM17A, PSMA1, PPARG, MRPL12, LRRC59, COX17, PLA2G12A, UQCR, TOMM40, ESRRA, NDUFAB1, ETFB, ACO2, PRDX3, ACADM, IVD, SORBS1, CYC1, MRPS34, PDIA6, SDHD, PEX11A, KIAA1161, ADAM12, MRPL18, MRPS2, MTX2, MRPL15, GRPEL1, NDUFA8, ALDOA, TIMM23, PPA1, BRP44, ORMDL3, MGST3, TMEM97, MRPS26, BCAP31, ARL6IP2, TIMM9, ECHS1, ATP5G1, PSMA5, POR, PC, PDCD8, DNAJB9, LPIN1, ZNRF2, CRAT, FAM73B, NRIP1, PTRF, LMAN2, FDX1

【００８１】

【表２－１３】

標準名	メンバー記号化
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	MAPK6, TALDO1, RREB1, RASD1, PHB, PEX14, USMG5, BCL2L13, ACSL1, C20ORF45, C18ORF8, TYSND1, FAM82C, MKNK2, PTGES2, CHP, NDUFB10, C22ORF13, GYS1, C2ORF7, PHB2, LOC642393, GPHN, LOC440567, ABHD5, MRPL34, COX6A1, COX4NB, IFNGR1, JAGN1, COQ9, C6ORF72, RPP14, C3, GK, PRPS1, HBLD1, SIPA1, PIM3, G6PD, GPI, TBL2, DBI, AK2, XBP1, GNPAT, CBR3, TIMM8A, SLC5A6, TXNDC14, TIMM17A, PSMA1, PPARG, MRPL12, LRRC59, COX17, PLA2G12A, UQCR, TOMM40, ESRRA, NDUFAB1, ETFB, ACO2, PRDX3, ACADM, IVD, SORBS1, CYC1, MRPS34, PDIA6, SDHD, PEX11A, KIAA1161, ADAM12, MRPL18, MRPS2, MTX2, MRPL15, GRPEL1, NDUFA8, ALDOA, TIMM23, PPA1, BRP44, ORMDL3, MGST3, TMEM97, MRPS26, BCAP31, ARL6IP2, TIMM9, ECHS1, ATP5G1, PSMA5, POR, PC, PDCD8, DNAJB9, LPIN1, ZNRF2, CRAT, FAM73B, NRIP1, PTRF, LMAN2, FDX1

【００８２】

【表２－１４】

標準名	PMID	著者
IDX_TSA_UP_CLUSTER5	15033539	Burton GR, Nagarajan R, Peterson CA, McGehee RE Jr

【００８３】

【表２－１５】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
ADIP_DIFF_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1138	マウス

【００８４】

【表２－１６】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
ADIP_DIFF_UP		GENE_SYMBOL	c2

【００８５】

【表２－１７】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
ADIP_DIFF_UP	L2L John Newman	Washington University	3T3-L1線維芽細胞からの分化後に成熟脂肪細胞中でアップレギュレート

【００８６】

【表２－１８】

標準名	完全な説明
ADIP_DIFF_UP	AB-トログリタゾン(TGZ)とは、抗糖尿病化合物のチアゾリジンジオンクラスのメンバーであり、ペルオキシソーム増殖因子活性化剤受容体-ガンマ(PPAR-ガンマ)作用剤が全身性インスリン感度を復元し、完全インスリン抵抗性症候群をin vivoで改善させる。そのin vivo機能の根底にある機構は理解されていない。ここでは、本発明者らは、脂肪細胞中におけるPPAR-ガンマとNF-カッパBとの間の潜在的な機能的相互作用を調査した。本発明者らは、TGZが、腫瘍壊死因子-アルファに誘導され、NF-カッパBに依存性の、複数の脂肪細胞に特異的な遺伝子の抑制ならびに増殖期および他の遺伝子誘導を選択的に遮断することを示した。これは、NF-カッパBの発現活性化核転座またはDNA結合を妨害せずに、かつNF-カッパB依存性の生存シグナルを抑制せずに起こる。特に、脂肪細胞中での一部の腫瘍壊死因子-アルファに誘導される遺伝子の発現は、PPAR-ガンマの活性化によって影響を受けなかった。HeLa細胞中のレポーター遺伝子アッセイでは、PPAR-ガンマの異所性発現は、NF-カッパBのp65サブユニット(RelA)によるNF-カッパB応答性レポーター遺伝子の誘導を無効にし、阻害は、TGZの存在によってさらに増強された。逆に、p65の過剰発現は、活性PPAR-ガンマによるPPAR-ガンマ応答性レポーター遺伝子の誘導を用量依存性の様式で阻害した。阻害効果は、プロモーター領域中のNF-カッパB結合部位の存在とは無関係であった。他のNF-カッパBファミリーメンバーp50およびc-Rel、ならびにp65のS276A突然変異体の、PPAR-ガンマに媒介される遺伝子転写の遮断の有効性はより低かった。したがって、p65は、脂肪細胞においてPPAR-ガンマの転写調節活を拮抗し、PPAR-ガンマの活性化は、主要な脂肪細胞遺伝子の発現に対するp65の阻害効果を、少なくとも部分的に打ち消すことができる。本発明者らのデータは、NF-カッパB活性の阻害が、PPAR-ガンマ作用剤がインスリン感度をin vivoで改善させ、脂肪細胞のNF-カッパBが肥満関連の2型糖尿病の潜在的な治療上の標的であることの機構であることを示唆している。

【００８７】

【表２－１９】

標準名	メンバー
ADIP_DIFF_UP	IRX3, DGAT1, DCN, SLC2A4, TALDO1, RASD1, ABCD2, PPARG, ACOX1, SCARB1, PFKFB1, ACSL1, ADIPOQ, ACADS, ITGA6, PLA2G6, FAM62A, BCKDHA, NNMT, TST, ACADM, TPP2, SORBS1, SELENBP1, MUT, HIPK3, AP3S1, TAP2, PEX11A, CBX4, COL15A1, ECH1, CEBPG, ALAD, AATK, DHRS3, AQP7, ABCA1, ORM2, G0S2, CIDEC, HP, CP, REEP5, CIB2, SERPINA3, IFNGR1, NFS1, CDKN2C, ME1, F11R, ALAS1, RNF11, RETN, FASN, GBP2, STAT1, IDH1, PC, LTC4S, ENTPD5, LAMA4, DBI, RGS2, NRIP1, AK2, UCK1, NR1H3, IDH3G

【００８８】

【表２－２０】

標準名	メンバー記号化
ADIP_DIFF_UP	IRX3, DGAT1, DCN, SLC2A4, TALDO1, RASD1, ABCD2, PPARG, ACOX1, SCARB1, PFKFB1, ACSL1, ADIPOQ, ACADS, ITGA6, PLA2G6, FAM62A, BCKDHA, NNMT, TST, ACADM, TPP2, SORBS1, SELENBP1, MUT, HIPK3, AP3S1, TAP2, PEX11A, CBX4, COL15A1, ECH1, CEBPG, ALAD, AATK, DHRS3, AQP7, ABCA1, ORM2, G0S2, CIDEC, HP, CP, REEP5, CIB2, SERPINA3, IFNGR1, NFS1, CDKN2C, ME1, F11R, ALAS1, RNF11, RETN, FASN, GBP2, STAT1, IDH1, PC, LTC4S, ENTPD5, LAMA4, DBI, RGS2, NRIP1, AK2, UCK1, NR1H3, IDH3G

【００８９】

【表２－２１】

標準名	PMID	著者
ADIP_DIFF_UP	12732648	Ruan H, Pownall HJ, Lodish HF

【００９０】

【表２－２２】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
TISSUE_DEVELOPMENT	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:449	ヒト
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:1047	ヒト

【００９１】

【表２－２３】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
TISSUE_DEVELOPMENT	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0009888	GENE_SYMBOL	c5
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0008544	GENE_SYMBOL	c5

【００９２】

【表２－２４】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
TISSUE_DEVELOPMENT	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0009888によって注記される遺伝子。その具体的な結果が、その形成から成熟構造までの、経時的な組織の進行であるプロセス。
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0008544によって注記される遺伝子。その具体的な結果が、その形成から成熟構造までの、経時的な表皮の進行であるプロセス。表皮とは、植物または動物の外側の上皮層であり、細胞外物質を産生する単層(たとえば節足動物の角質)または多くの脊椎動物種などの場合のように複雑な重層の扁平上皮であり得る。

【００９３】

【表２－２５】

標準名	完全な説明
TISSUE_DEVELOPMENT	
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	

【００９４】

【表２－２６】

標準名	メンバー
TISSUE_DEVELOPMENT	DHCR24, PTF1A, HOXC11, LAMC1, RUNX2, GLI1, NF1, SLIT2, APOA5, KLF4, TRIM15, BMP4, KL, ERCC2, ERCC3, SPINK5, ANKH, EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, COL5A2, KRT9, SASP, TGFB2, EYA2, GHSR, PPARD, GHRL, FST, COL13A1, RTN4RL1, RTN4RL2, KLK8, NME2, BMX, BTK, HCK, JAK2, MATK, MEST, SECTM1, T, TBX6, TCF15, TCF21, TIE1, GDF11, IKZF1, IKZF3, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, SNAI2, CDK6, TWIST2, IL20, BMP1, COL11A1, MGP, ALX1, AHSG, SRGN, TBX3, ACVR1, ZNF675, ACHE, GLI2, IL17F, ATP6V1B1, CASR, DMP1, DSPP, SPARC, STATH, OSTF1, ATP6V0A4, TGM3, SMAD2
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, IL20, TGM3

【００９５】

【表２－２７】

標準名	メンバー記号化
TISSUE_DEVELOPMENT	DHCR24, PTF1A, HOXC11, LAMC1, RUNX2, GLI1, NF1, SLIT2, APOA5, KLF4, TRIM15, BMP4, KL, ERCC2, ERCC3, SPINK5, ANKH, EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, COL5A2, KRT9, SASP, TGFB2, EYA2, GHSR, PPARD, GHRL, FST, COL13A1, RTN4RL1, RTN4RL2, KLK8, NME2, BMX, BTK, HCK, JAK2, MATK, MEST, SECTM1, T, TBX6, TCF15, TCF21, TIE1, GDF11, IKZF1, IKZF3, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, SNAI2, CDK6, TWIST2, IL20, BMP1, COL11A1, MGP, ALX1, AHSG, SRGN, TBX3, ACVR1, ZNF675, ACHE, GLI2, IL17F, ATP6V1B1, CASR, DMP1, DSPP, SPARC, STATH, OSTF1, ATP6V0A4, TGM3, SMAD2
EPIDERMIS_DEVELOPMENT	ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, IL20, TGM3

【００９６】

【表２－２８】

標準名	PMID	著者
TISSUE_DEVELOPMENT		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.
EPIDERMIS_DEVELOPMENT		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.

【００９７】

【表２－２９】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:843	ヒト
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:917	ヒト
ECTODERM_DEVELOPMENT	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:1745	ヒト

【００９８】

【表２－３０】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0002009	GENE_SYMBOL	c5
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0030216	GENE_SYMBOL	c5
ECTODERM_DEVELOPMENT	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0007398	GENE_SYMBOL	c5

【００９９】

【表２－３１】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0002009によって注記される遺伝子。上皮の解剖学的構造が生成および組織化されるプロセス。形態形成とは、形を作ることに関する。上皮とは、1つまたは複数の層で配置された、密に詰まった細胞のシートであり、身体の外表面を覆う、または任意の内部腔または管の内側を覆う。
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0030216によって注記される遺伝子。比較的未分化の細胞がケラチノサイトの特殊化された特長を獲得するプロセス。
ECTODERM_DEVELOPMENT	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0007398によって注記される遺伝子。その具体的な結果が、その形成から成熟構造までの、経時的な外胚葉の進行であるプロセス。動物の胚では、外胚葉は、原腸陥入中に形成される胚の外側の胚葉である。

【０１００】

【表２－３２】

標準名	完全な説明
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	
ECTODERM_DEVELOPMENT	

【０１０１】

【表２－３３】

標準名	メンバー
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	TIMELESS, DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF, CELSR1, VANGL2, GLI2, LMO4, BCL10
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	ANXA1, CSTA, DSP, EREG, EVPL, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR1B, TGM1, TGM3, SCEL, TXNIP, NME2, IL20
ECTODERM_DEVELOPMENT	EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, IL20, TGM3

【０１０２】

【表２－３４】

標準名	メンバー記号化
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM	TIMELESS, DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF, CELSR1, VANGL2, GLI2, LMO4, BCL10
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION	ANXA1, CSTA, DSP, EREG, EVPL, IVL, LOR, SPRR1A, SPRR1B, TGM1, TGM3, SCEL, TXNIP, NME2, IL20
ECTODERM_DEVELOPMENT	EDA, STX2, KRT6A, KRT6B, PROX1, TFAP2A, VAX2, ZBTB7B, SMURF1, ERCC2, ERCC3, SPINK5, COL5A2, DHCR24, KRT9, SASP, TGFB2, FST, NME2, GLI1, ALDH3A2, ALOX12B, STS, ATP2A2, BNC1, BTD, CDSN, COL1A1, COL7A1, COL17A1, CRABP2, CTGF, DCT, DSP, EMP1, EVPL, FABP5, FGF7, FLOT2, GJB5, KRTAP5-9, KRT1, KRT2, KRT5, KRT10, KRT13, KRT14, KRT15, KRT16, KRT17, KRT31, KRT32, KRT34, KRT83, KRT85, LAMA3, LAMB3, LAMC2, PLOD1, PPARD, KLK7, PTHLH, RBP2, S100A7, SPRR1A, SPRR1B, UGCG, WAS, FOXN1, PTCH2, SCEL, TGM5, HOXB13, CASP14, KLK5, POU2F3, ATP2C1, CALML5, IL20, TGM3

【０１０３】

【表２－３５】

標準名	PMID	著者
MORPHOGENESIS_OF_AN_EPITHELIUM		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.
KERATINOCYTE_DIFFERENTIATION		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.
ECTODERM_DEVELOPMENT		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.

【０１０４】

【表２－３６】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:448	ヒト
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:825	ヒト

【０１０５】

【表２－３７】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0030855	GENE_SYMBOL	c5
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN		GENE_SYMBOL	c2

【０１０６】

【表２－３８】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0030855によって注記される遺伝子。比較的未分化の細胞が、上皮細胞、上皮を構成する細胞のうちの任意のものの特殊化された特長を獲得するプロセス。
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	Jean Junior	Broad Institute	Van't Veerら、2002からの、乳癌における予後不良マーカー遺伝子(NKI-70の一部)

【０１０７】

【表２－３９】

標準名	完全な説明
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	AB-同じ段階の疾患を有する乳癌患者は、顕著に異なる処置応答および全体的な結果を有する場合がある。転移の最も強力な予測材料(たとえばリンパ節の状態および組織学的グレード)では、乳房腫瘍をその臨床的挙動に従って正確に分類することができなかった。化学療法またはホルモン療法は遠隔転移の危険性を約1/3下げるが、この処置を受けている患者の70～80%は、それなしで生存したであろう。現在までに報告されている乳癌遺伝子発現のサインはどれも、患者にあつらえた治療戦略を可能にしていない。ここでは、本発明者らは、117人の若い患者の原発性乳房腫瘍にDNAマイクロアレイ分析を使用し、教師あり分類を適用して、診断時に局所的リンパ節に腫瘍細胞を有さない患者(リンパ節陰性)において、遠隔転移(「予後不良」サイン)までの短い間隔の強力な判断材料である遺伝子発現サインを同定した。さらに、本発明者らは、BRCA1保有者の腫瘍を同定するサインを確立した。予後不良サインは、細胞周期侵襲転移および血管形成を調節する遺伝子からなる。この遺伝子発現プロファイルは、疾患結果の予測において現在使用されているすべての臨床パラメータよりも優れている。本発明者らの発見は、アジュバント療法が有益である患者を選択するための戦略を提供する。

【０１０８】

【表２－４０】

標準名	メンバー
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	PRC1, MGAT4A, L13, LCHN, BM037, RAD21, FLJ23468, EXT1, CCNB2, FLJ10549, RAB6B, STK15, NMU, MCM6, TRIP13, L2DTL, PFKP, PRO2000, GGH, LOC56901, HRB, FLJ10461, DCK, FBXO5, FLJ20354, CCNE2, ECT2, CENPA, AD024, DC13, PCTK1, EZH2, ADM, BNIP3, FLJ10134, BM039, PSMD2, LOC57110, CP, PRAME, HSU54999, FLT1, SMC4L1, CENPF, LAP18, DKFZP761H171, BUB1, DEGS, FLJ12443, TK1, ASNS, RFC4, FLJ21924, DKFZP434B168, GMPS, PSMD7, CKS2, FLJ11190, ESM1, MAD2L1, PGK1, MMP9, PIR, NS1-BP, COL4A2, KIAA0175, CDC25B, ORC6L, KIAA0042, SM-20, KIAA0008, VEGF, AKAP2, MP1, RRM2, TFRC, PTDSS1, IGFBP5, HMG4, KIAA1104, FLJ22341, SERF1A, NMB, FLJ10511, DKFZP564D0462, MCCC1, CTSL2, GNAZ, CA9, DKFZp762E1312, SACS, PK428, FLJ10156, STX1A, ST7, CTPS, BIRC5, SLC2A3, NDRG1, STK3, FLJ22477, MAPRE2, LOC51203, NSAP1, OXCT, MTMR2, UCH37, HEC, TMEFF1, GBE1, FLJ10901, STK6

【０１０９】

【表２－４１】

標準名	メンバー記号化
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION	DMBT1, ELF3, KRT3, KRT4, UPK1B, UPK2, UPK3A, SPINK5, UPK1A, EHF
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	PRC1, MGAT4A, L13, LCHN, BM037, RAD21, FLJ23468, EXT1, CCNB2, FLJ10549, RAB6B, STK15, NMU, MCM6, TRIP13, L2DTL, PFKP, PRO2000, GGH, LOC56901, HRB, FLJ10461, DCK, FBXO5, FLJ20354, CCNE2, ECT2, CENPA, AD024, DC13, PCTK1, EZH2, ADM, BNIP3, FLJ10134, BM039, PSMD2, LOC57110, CP, PRAME, HSU54999, FLT1, SMC4L1, CENPF, LAP18, DKFZP761H171, BUB1, DEGS, FLJ12443, TK1, ASNS, RFC4, FLJ21924, DKFZP434B168, GMPS, PSMD7, CKS2, FLJ11190, ESM1, MAD2L1, PGK1, MMP9, PIR, NS1-BP, COL4A2, KIAA0175, CDC25B, ORC6L, KIAA0042, SM-20, KIAA0008, VEGF, AKAP2, MP1, RRM2, TFRC, PTDSS1, IGFBP5, HMG4, KIAA1104, FLJ22341, SERF1A, NMB, FLJ10511, DKFZP564D0462, MCCC1, CTSL2, GNAZ, CA9, DKFZp762E1312, SACS, PK428, FLJ10156, STX1A, ST7, CTPS, BIRC5, SLC2A3, NDRG1, STK3, FLJ22477, MAPRE2, LOC51203, NSAP1, OXCT, MTMR2, UCH37, HEC, TMEFF1, GBE1, FLJ10901, STK6

【０１１０】

【表２－４２】

標準名	PMID	著者
EPITHELIAL_CELL_DIFFERENTIATION		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.
VANTVEER_BREAST_OUTCOME_GOOD_VS_POOR_DN	11823860	van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH

【０１１１】

【表２－４３】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
BRCA_PROGNOSIS_NEG	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1215	ヒト

【０１１２】
【表２－４４】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
BRCA_PROGNOSIS_NEG		GENE_SYMBOL	c2

【０１１３】

【表２－４５】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
BRCA_PROGNOSIS_NEG	L2L John Newman	Washington University	その発現が乳癌の結果と一貫して負に相関している遺伝子-より高い発現は転移および予後不良に関連している

【０１１４】
【表２－４６】

標準名	完全な説明
BRCA_PROGNOSIS_NEG	AB-同じ段階の疾患を有する乳癌患者は、顕著に異なる処置応答および全体的な結果を有する場合がある。転移の最も強力な予測材料(たとえばリンパ節の状態および組織学的グレード)では、乳房腫瘍をその臨床的挙動に従って正確に分類することができなかった。化学療法またはホルモン療法は遠隔転移の危険性を約1/3下げるが、この処置を受けている患者の70～80%は、それなしで生存したであろう。現在までに報告されている乳癌遺伝子発現のサインはどれも、患者にあつらえた治療戦略を可能にしていない。ここでは、本発明者らは、117人の若い患者の原発性乳房腫瘍にDNAマイクロアレイ分析を使用し、教師あり分類を適用して、診断時に局所的リンパ節に腫瘍細胞を有さない患者(リンパ節陰性)において、遠隔転移(「予後不良」サイン)までの短い間隔の強力な判断材料である遺伝子発現サインを同定した。さらに、本発明者らは、BRCA1保有者の腫瘍を同定するサインを確立した。予後不良サインは、細胞周期侵襲転移および血管形成を調節する遺伝子からなる。この遺伝子発現プロファイルは、疾患結果の予測において現在使用されているすべての臨床パラメータよりも優れている。本発明者らの発見は、アジュバント療法が有益である患者を選択するための戦略を提供する。

【０１１５】

【表２－４７】

標準名	メンバー
BRCA_PROGNOSIS_NEG	SMC4, C1ORF106, ASPM, GMPS, PSMD7, PRC1, KIF21A, C16ORF61, CKS2, ESM1, MGAT4A, PGK1, MAD2L1, LRP12, PAQR3, RAD21, EXT1, MMP9, PIR, CCNB2, DTL, COL4A2, AURKA, KNTC2, DLG7, NMU, MCM6, IVNS1ABP, TRIP13, PTPLB, MTDH, PFKP, DEGS1, CDC25B, ORC6L, SYNCRIP, SPBC25, GGH, HRB, VEGF, CENPN, AYTL2, TFRC, DCK, PTDSS1, INTS7, FBXO5, IGFBP5, HMGB3, ECT2, KIF14, NMB, FAM64A, UCHL5, PITRM1, ATAD2, CENPA, MCCC1, PCTK1, CTSL2, GNAZ, CA9, EZH2, ADM, BNIP3, SACS, PLEKHA1, PSMD2, OXCT1, PRAME, FLT1, GPR126, TSPYL5, CTPS, GPSM2, TMEM45A, MRPL13, DIAPH3, ARMC1, NDRG1, CDC42BPA, STK3, DEPDC1, C20ORF46, BUB1, MAPRE2, DKFZP762E1312, MTMR2, MELK, STMN1, SLC7A1, GBE1, RRAGD, ASNS, RFC4

【０１１６】
【表２－４８】

標準名	メンバー記号化
BRCA_PROGNOSIS_NEG	SMC4, C1ORF106, ASPM, GMPS, PSMD7, PRC1, KIF21A, C16ORF61, CKS2, ESM1, MGAT4A, PGK1, MAD2L1, LRP12, PAQR3, RAD21, EXT1, MMP9, PIR, CCNB2, DTL, COL4A2, AURKA, KNTC2, DLG7, NMU, MCM6, IVNS1ABP, TRIP13, PTPLB, MTDH, PFKP, DEGS1, CDC25B, ORC6L, SYNCRIP, SPBC25, GGH, HRB, VEGF, CENPN, AYTL2, TFRC, DCK, PTDSS1, INTS7, FBXO5, IGFBP5, HMGB3, ECT2, KIF14, NMB, FAM64A, UCHL5, PITRM1, ATAD2, CENPA, MCCC1, PCTK1, CTSL2, GNAZ, CA9, EZH2, ADM, BNIP3, SACS, PLEKHA1, PSMD2, OXCT1, PRAME, FLT1, GPR126, TSPYL5, CTPS, GPSM2, TMEM45A, MRPL13, DIAPH3, ARMC1, NDRG1, CDC42BPA, STK3, DEPDC1, C20ORF46, BUB1, MAPRE2, DKFZP762E1312, MTMR2, MELK, STMN1, SLC7A1, GBE1, RRAGD, ASNS, RFC4

【０１１７】

【表２－４９】

標準名	PMID	著者
BRCA_PROGNOSIS_NEG	11823860	van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, He YD, Hart AA, Mao M, Peterse HL, van der Kooy K, Marton MJ, Witteveen AT, Schreiber GJ, Kerkhoven RM, Roberts C, Linsley PS, Bernards R, Friend SH

【０１１８】
【表２－５０】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:785	ヒト

【０１１９】

【表２－５１】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN		SEQ_ACCESSION	c2

【０１２０】

【表２－５２】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN	Yujin Hoshida	Broad Institute	肝細胞癌中で高度に発現される遺伝子であり、生存は不良である。

【０１２１】

【表２－５３】

標準名	完全な説明
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN	

【０１２２】

【表２－５４】

標準名	メンバー
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN	CSDA, ENIGMA, RPS3, RWDD1, MTHFD2, LAMB1, FLJ23468, NSF, YWHAH, DSG2, HIST2H4, HSPC133, AGRN, RPL35, LSM8, MCM6, MGC20486, CDW92, ATP5C1, ICAP-1A, C6orf83, BUB3, ATP2B1, PRO2000, RPL12, VCL, HRB, TCTEL1, FLJ10036, YWHAQ, NTS, SERPINH1, FLJ10697, EEF1E1, FLJ20354, ECT2, MCM2, NAP1L1, KIAA1764, CGI-130, CTBP2, MGC5627, C19orf2, AD024, DUSP18, LAMR1, CGI-62, BZW2, HRMT1L1, LXN, DNCL1, RPS3A, LOC148213, CALM2, BCAT1, UBA2, TES, TETRAN, TD-60, ACTR3, HMGB2, MCM7, KRT10, CENPF, MMD, MARCKS, JJAZ1, KHDRBS1, RAN, TMSB4X, HNRPC, CCNA2, HRMT1L2, RPL36A, S100A6, ARHGAP18, DYRK2, TSSC3, SPF45, SET, MYH2, CCNB1, C20orf35, ODC1, FLJ10468, SNRPG, LYAR, RBX1, CKS2, SLBP, KRT19, LOC51685, NOL5A, NALP2, USP1, CGI-121, RPL27, HDAC2, MGC18216, PBX1, FBL, CCT6A, PLP2, NP, CBX3, DLG7, BAF53A, CCT5, NCBP2, PELI1, RPS18, HSPC150, ZNF138, FLJ14761, UBE2D1, TERA, FLJ10407, PTMA, FABP5, RPL9, SLC34A1, TSPAN-3, RPL38, HIF1A, RPS6, ANLN, HIST1H4C, KIAA0101, RPS9, K-ALPHA-1, RPS5, MGC24665, LOC256112, PDCD5, SMC2L1, ANXA3, ROD1, DEK, HIST1H4A, MRPL42, RALA, HNRPA1, IER3, RPS7, CLIC1, RPE, KLF5, RPS11P1, MAPRE1, ARHE, RAB32, CD164, NFE2L3, TTK, SNRPB2, RPL17, CRFG, TOPBP1, MSH6, HMGN1, HN1, CDC10, PCNA, MGC45594, YWHAB, OLIG2, RPL31, KIF5B, OPLAH, DDX48, B3GNT5, CDK4, KNTC1, RGS2, ANXA4, Hes4, SMT3H2, D10S170, ITPR3, FLJ10901, PFDN4, CD2AP, NPM1

【０１２３】

【表２－５５】

標準名	メンバー記号化
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN	CSDA, ENIGMA, RPS3, RWDD1, MTHFD2, LAMB1, FLJ23468, NSF, YWHAH, DSG2, HIST2H4, HSPC133, AGRN, RPL35, LSM8, MCM6, MGC20486, CDW92, ATP5C1, ICAP-1A, C6orf83, BUB3, ATP2B1, PRO2000, RPL12, VCL, HRB, TCTEL1, FLJ10036, YWHAQ, NTS, SERPINH1, FLJ10697, EEF1E1, FLJ20354, ECT2, MCM2, NAP1L1, KIAA1764, CGI-130, CTBP2, MGC5627, C19orf2, AD024, DUSP18, LAMR1, CGI-62, BZW2, HRMT1L1, LXN, DNCL1, RPS3A, LOC148213, CALM2, BCAT1, UBA2, TES, TETRAN, TD-60, ACTR3, HMGB2, MCM7, KRT10, CENPF, MMD, MARCKS, JJAZ1, KHDRBS1, RAN, TMSB4X, HNRPC, CCNA2, HRMT1L2, RPL36A, S100A6, ARHGAP18, DYRK2, TSSC3, SPF45, SET, MYH2, CCNB1, C20orf35, ODC1, FLJ10468, SNRPG, LYAR, RBX1, CKS2, SLBP, KRT19, LOC51685, NOL5A, NALP2, USP1, CGI-121, RPL27, HDAC2, MGC18216, PBX1, FBL, CCT6A, PLP2, NP, CBX3, DLG7, BAF53A, CCT5, NCBP2, PELI1, RPS18, HSPC150, ZNF138, FLJ14761, UBE2D1, TERA, FLJ10407, PTMA, FABP5, RPL9, SLC34A1, TSPAN-3, RPL38, HIF1A, RPS6, ANLN, HIST1H4C, KIAA0101, RPS9, K-ALPHA-1, RPS5, MGC24665, LOC256112, PDCD5, SMC2L1, ANXA3, ROD1, DEK, HIST1H4A, MRPL42, RALA, HNRPA1, IER3, RPS7, CLIC1, RPE, KLF5, RPS11P1, MAPRE1, ARHE, RAB32, CD164, NFE2L3, TTK, SNRPB2, RPL17, CRFG, TOPBP1, MSH6, HMGN1, HN1, CDC10, PCNA, MGC45594, YWHAB, OLIG2, RPL31, KIF5B, OPLAH, DDX48, B3GNT5, CDK4, KNTC1, RGS2, ANXA4, Hes4, SMT3H2, D10S170, ITPR3, FLJ10901, PFDN4, CD2AP, NPM1

【０１２４】

【表２－５６】

標準名	PMID	著者
HCC_SURVIVAL_GOOD_VS_POOR_DN		

【０１２５】

【表２－５７】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:888	ヒト
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1990	ヒト

【０１２６】

【表２－５８】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN		AFFYMETRIX	c2
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	http://www.kegg.jp/dbget-bin/show_pathway?HSA05222	GENE_SYMBOL	c2

【０１２７】

【表２－５９】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	Kevin Vogelsang	Broad Institute	これらは、WTと胎児の腎臓HIGHとの間のそのmRNA発現(expresssion)が異なることなどの単純な統計的基準によって同定した遺伝子である
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	KEGG	KEGG	小細胞肺癌に関与する遺伝子

【０１２８】

【表２－６０】

標準名	完全な説明
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	AB-ウィルムス腫瘍(WT)は、癌における停止した細胞分化のプロトタイプとみなされているが、以前の研究は選択されたマーカーに依存していた。本発明者らは、今回、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いたWT中の遺伝子発現の不偏性の調査を行った。統計的基準により、357個の遺伝子がWTと胎児の腎臓との間で示差的に発現されるとして同定された。この組は、Stuartおよび同僚(Stuart RO Bush KT Nigam SK、Changes in global gene expression patterns during development and maturation of the rat kidney.Proc Natl Acad Sci USA、2001、98、5649～5654)が使用したマイクロアレイ上の遺伝子と124個の一致を含有しており、発生中のラット腎臓中の段階に特異的な発現の遺伝子が確立された。2つのデータ組間のマッピングにより、WTが、後腎発生の最初期段階に対応する遺伝子を系統的に過剰発現し、後の段階に対応する遺伝子を過小発現したことが示された。自動クラスタリングにより、胎児の腎臓ならびに異種腫瘍および正常組織と比較してWT中で高度に発現された27個の遺伝子のより小さな群が同定された。このサイン組は、転写因子をコードしている遺伝子中で濃縮されていた。これらのうちの4つ、PAX2、EYA1、HBF2およびHOXA11は、初期の後腎発生において細胞の生存および増殖に必須である一方で、SIX1、MOX1およびSALL2を含めた他のものは、この段階で作用すると予測される。SIX1およびSALL2タンパク質は、正常なヒト胎児の腎臓において濃縮間葉中で発現されたが、他の発生段階の細胞中では存在しない(SIX1)または低下していた(SALL2)。これらのデータは、WT中の芽体が間葉-上皮の移行の拘束された段階に進行し、ここで分化が部分的に停止したことを示唆している。また、WT-サイン組は、Wnt受容体FZD7、腫瘍抗原PRAME、インプリントされた遺伝子NNATおよび転移関連転写因子E1AFも含有する。
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	

【０１２９】

【表２－６１】

標準名	メンバー
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	40004_at, 35260_at, 904_s_at, 1383_at, 36491_at, 36597_at, 1782_s_at, 35141_at, 34878_at, 38875_r_at, 36206_at, 40074_at, 40726_at, 36581_at, 2003_s_at, 572_at, 32081_at, 39425_at, 31872_at, 38753_at, 40512_at, 37585_at, 39073_at, 36671_at, 32598_at, 33255_at, 40117_at, 34563_at, 39230_at, 37663_at, 34402_at, 32842_at, 2053_at, 39642_at, 39519_at, 419_at, 39715_at, 603_at, 40634_at, 35200_at, 1833_at, 41050_at, 39426_at, 36837_at, 34843_at, 34314_at, 38724_at, 36813_at, 39045_at, 37809_at, 37564_at, 604_at, 349_g_at, 35699_at, 32120_at, 37193_at, 33324_s_at, 40412_at, 37686_s_at, 37171_at, 34851_at, 38424_at, 37739_at, 32263_at, 38251_at, 975_at, 36178_at, 40641_at, 1985_s_at, 32617_at, 32190_at, 1599_at, 38158_at, 33852_at, 36932_at, 41626_at, 41352_at, 41569_at, 38728_at, 34829_at, 860_at, 1031_at, 40465_at, 32644_at, 35615_at, 34950_at, 39109_at, 40690_at, 38414_at, 36898_r_at, 41403_at, 35657_at, 36650_at, 32102_at, 1592_at, 37231_at, 38863_at, 37508_f_at, 38951_at, 36603_at, 40774_at, 37283_at, 37347_at, 40145_at, 38834_at, 1287_at, 37605_at, 40827_at, 36189_at, 36192_at, 35829_at, 38032_at, 32261_at, 40575_at, 32589_at, 39175_at, 37293_at, 37985_at, 33266_at, 39372_at, 38847_at, 38116_at, 35969_at, 33222_at, 36611_at, 33929_at, 212_at, 798_at, 37971_at, 35694_at, 1521_at, 1860_at, 41099_at, 34783_s_at, 41583_at, 649_s_at, 1235_at, 1057_at, 32696_at, 38313_at, 39342_at, 37073_at, 38105_at, 1584_at, 1721_g_at, 1884_s_at, 36010_at, 36059_at, 37567_at, 37774_at, 35312_at, 41395_at, 32790_at, 38358_at, 37302_at, 31838_at, 37305_at, 1058_at, 39337_at, 38977_at, 34726_at, 35745_f_at, 40407_at, 38573_at, 1544_at, 38702_at, 36815_at, 2093_s_at
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	AKT3, CDK2, CDK4, CDK6, CDKN1B, CDKN2B, LAMC3, PIAS3, CHUK, CKS1B, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, E2F1, E2F2, E2F3, AKT1, AKT2, FHIT, LAMB4, FN1, PIK3R5, LAMA1, APAF1, BIRC2, BIRC3, BIRC4, IKBKB, ITGA6, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGAV, ITGB1, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, MAX, MYC, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NOS1, NOS2A, NOS3, PIAS4, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, CYCS, PTEN, PTGS2, PTK2, RARB, RB1, CCND1, BCL2, RELA, BCL2L1, RXRA, RXRB, RXRG, SKP2, TP53, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6, CASP9, PIK3R3, IKBKG, PIAS1, CCNE1, PIAS2, CCNE2, TRAF4

【０１３０】

【表２－６２】

標準名	メンバー記号化
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	MN1, AURKB, BLM, DDX23, SPAG5, UCK2, ABCA2, CKS1B, FEN1, MTHFD2, PRIM2A, CKAP5, NME1, TIA1, SLC16A1, CCNB2, CHST1, ILF2, AURKA, TXNRD1, GPC1, TOP2A, MCM6, RNASEH2A, PLK4, MARS, TP53BP2, BRCA1, TRIP13, UNG, TMSL8, BUB3, XPOT, COL2A1, PFKP, CDK2, KPNA2 /// MGC40489 /, RRM1, KIAA0692, LMNB1, KIAA1794, NOLC1, KIF23, NELL2, MSH2, WASF3, STRAP, SRPK1, PRPF40A /// LOC64245, CACNB3, MCM2, NAP1L1, CRABP2, BCL7A, BOP1 /// LOC653119, CHAF1A, CCND2, EZH2, EYA1, PRIM1, CDH2, DDX52, FZD7, CENPF, ST6GAL1, RFC5, H2AFZ, CXCR4, LRP4, CDC2, SIX1, MELK, NUP188, SV2A, LIG3, NUP205, PTTG1, ASNS, IGSF4, FLJ11021, SMC4, YWHAZ, TARBP2, ZNF516, MEOX1, YAF2, CKS2, ADIPOR2, MAD2L1, NR2C1, DLG5, ESPL1, ELOVL2, CHN1, GTF3C2, MIZF, FADS2, DLG7, HMGA2, KIFC1, NCBP2, FADS1, CDKN3, DKC1, FAM62A, MPHOSPH9, C12ORF24, ENO1 /// SNRPF, BUB1B, BAZ1A, MKI67, SALL2, POLE3, KIAA0101, SNRPA1, BAZ1B, KIF14, GREB1, KIAA0515, NASP, SCRN1, GARS, TCERG1, SHMT2, CCT3, CIT, TPX2, TIMELESS, SS18, CDC25C, COL13A1, PCBP2, SACS, MLXIP, MAP4K4, SSRP1, KIF2C, IARS, TTK, TOPBP1, CDC20, BTAF1, PBX3, MSH6, DDX1, KIF11, XRCC5, MYL6B, SEPT6, PPP2R2A, YARS, PCNA, APOBEC3B, DNAJC9, ACP1, HOXA9, STMN1, PARP1, ZNF423, GCN1L1, TAF5, ROR2
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER	AKT3, CDK2, CDK4, CDK6, CDKN1B, CDKN2B, LAMC3, PIAS3, CHUK, CKS1B, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, E2F1, E2F2, E2F3, AKT1, AKT2, FHIT, LAMB4, FN1, PIK3R5, LAMA1, APAF1, BIRC2, BIRC3, BIRC4, IKBKB, ITGA6, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGAV, ITGB1, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, MAX, MYC, NFKB1, NFKB2, NFKBIA, NOS1, NOS2A, NOS3, PIAS4, PIK3CA, PIK3CB, PIK3CD, PIK3CG, PIK3R1, PIK3R2, CYCS, PTEN, PTGS2, PTK2, RARB, RB1, CCND1, BCL2, RELA, BCL2L1, RXRA, RXRB, RXRG, SKP2, TP53, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF5, TRAF6, CASP9, PIK3R3, IKBKG, PIAS1, CCNE1, PIAS2, CCNE2, TRAF4

【０１３１】

【表２－６３】

標準名	PMID	著者
LI_FETAL_VS_WT_KIDNEY_DN	12057921	Li CM, Guo M, Borczuk A, Powell CA, Wei M, Thaker HM, Friedman R, Klein U, Tycko B
HSA05222_SMALL_CELL_LUNG_CANCER		Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., Yamanishi, Y.

【０１３２】

【表２－６４】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1101	ヒト
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1234	ヒト

【０１３３】

【表２－６５】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF		AFFYMETRIX	c2
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０１３４】

【表２－６６】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	Kevin Vogelsang	Broad Institute	46日目にMRDと有意に関連している遺伝子
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	L2L John Newman	Washington University	OncoMine遺伝子発現データベースのメタ分析から、67個の遺伝子が一般的に正常組織と比較して癌においてアップレギュレートされていた

【０１３５】

【表２－６７】

標準名	完全な説明
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	AB-小児期急性リンパ芽球性白血病(ALL)では、処置に対する初期応答は強力な予後的指標である。この応答に関連する遺伝子を同定するために、本発明者らは、ALLに罹患している189人の小児からの診断的リンパ芽球の遺伝子発現を分析し、寛解誘導処置の19および46日目の最小残存病変(MRD)レベルの所見と比較した。遺伝子サブグループに関連する遺伝子を排除した後、本発明者らはMRDと有意に関連する17個の遺伝子を同定した。アポトーシスおよび糖質コルチコイドのシグナル伝達におけるその報告されている役割のため、カスパーゼ8関連タンパク質2(CASP8AP2)遺伝子をさらに研究した。遺伝子発現プロファイルおよびMRDの比較に含まれない99人の患者の別のコホートでは、低レベルのCASP8AP2発現ではより低い無再発生存率(P=.02)が予測され、より高い白血病再発率(P=.01)は、独立した結果の予測材料であった。高レベルのCASP8AP2発現は、白血病性リンパ芽球がアポトーシスを受ける性向が高いことに関連していた。本発明者らは、診断時にCASP8AP2発現を測定することで、その白血病細胞が化学療法に対する感受性が高い患者を同定するための手段が提供されると結論づけた。したがって、この遺伝子は、白血病の診断に具体的に設計された遺伝子発現アレイに含める強力な候補である。
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	AB-多くの研究で、ヒト癌の遺伝子発現サインを同定するためにDNAマイクロアレイを使用してきたが、これらの臨床的特長、多くの場合は処理しきれないほど多数のサインが、定義困難なままである。これに対処するために、本発明者らは、マイクロアレイのデータ組の多様なコレクションから複数の遺伝子発現サインの共通部分を同定および評価する、統計的方法である比較メタプロファイリングを開発した。本発明者らは、>3700個の癌試料からの3800万個の遺伝子発現測定値を含む、40個の公開された癌のマイクロアレイのデータ組を収集および分析した。これから、本発明者らは、それが発生した正常組織と比較してほとんどの癌種において普遍的に活性化されている共通の転写プロファイルを特徴づけ、これは、新生物性形質転換の必須の転写特長を反映している可能性が高い。さらに、本発明者らは、様々な種類の未分化の癌で一般的に活性化されている転写プロファイルを特徴づけ、これにより、癌細胞が進行して分化を回避する共通の分子機構が示唆される。最後に、本発明者らは、これらの転写プロファイルを独立したデータ組に対して妥当性を確認した。

【０１３６】

【表２－６８】

標準名	メンバー
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	200081_s_at, 220657_at, 218268_at, 200937_s_at, 217747_s_at, 218986_s_at, 207894_s_at, 215177_s_at, 218586_at, 201429_s_at, 200019_s_at, 201904_s_at, 208904_s_at, 201337_s_at, 209499_x_at, 203963_at, 204599_s_at, 209543_s_at, 209288_s_at, 218736_s_at, 209732_at, 209510_at, 203422_at, 202326_at, 211937_at, 208724_s_at, 211717_at, 218041_x_at, 222201_s_at, 212202_s_at, 200034_s_at, 212042_x_at, 213075_at, 209502_s_at, 217098_s_at, 200927_s_at, 218562_s_at, 209760_at, 212509_s_at, 208330_at, 218033_s_at, 203544_s_at, 221646_s_at, 212419_at, 205888_s_at, 201259_s_at, 219165_at, 207979_s_at, 202393_s_at, 215717_s_at, 211927_x_at, 212773_s_at, 217281_x_at, 216520_s_at, 213890_x_at, 200005_at, 200025_s_at, 216444_at, 207940_x_at, 200024_at, 202649_x_at, 217915_s_at, 200038_s_at, 218084_x_at, 221726_at, 204102_s_at, 217719_at, 219364_at, 204804_at, 214351_x_at, 206142_at, 200716_x_at, 201325_s_at, 218115_at, 208856_x_at, 221718_s_at, 206890_at, 209795_at, 38158_at, 200949_x_at, 203702_s_at, 203276_at, 206502_s_at, 204426_at, 200632_s_at
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	TSTA3, FAP, CKS2, MTHFD2, NME1, SOX4, SNRPF, HNRPA2B1, TRAF4, SSR1, MMP9, ILF2, CBX3, IFNGR2, CCT5, HSPD1, NCBP2, TOP2A, SSBP1, TARS, CDKN3, LDHA, PRDX4, CANX, PPP2R5C, PTMA, RBM4, MRPS12, PSMC4, KPNA2, SMARCA4, KIAA0101, KDELR2, UBE2S, PLK1, CRIP2, MCM3, G3BP, NONO, E2F5, TPX2, TGIF, CCT4, PAFAH1B3, HDAC1, AHCY, IARS, PSME2, HSPE1, OGT, DVL3, COPB2, MRPL3, COL1A2, TUBB, ARMET, PAICS, ACLY, CDC2, SNRPE, DDX48, NUP205, SDHC, RFC4

【０１３７】

【表２－６９】

標準名	メンバー記号化
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	OLFML2A, VAMP3, KIAA0922, ESPL1, RPL27, ZNF96, STAM, C15ORF15, BAIAP2, MRPL28, ZNF135, ZDHHC11, ITGA6, POLD1, CD8B, SYPL1, EIF3S7, EEF1G /// LOC654007, CA12, TMED2, RPLP0, LMNB1, RPS16, LGP2, CDC42EP3, RPS6, CNR1, CTDSPL, RPS9, TBC1D15, RPS5, SMURF2, FBN2, AKAP13, EEF2, TTLL4, SLC38A2, SNN, RPL5, TOMM20, EIF4B, RPL6, PDLIM2, FAU, KLF10, RPL13A, RAB1A, TMEM87A, EIF3S6IP, TPT1, TRIM21, RPL7 /// LOC653702 /, INSM1, KLHL11, RPL17, TCL6, NDRG1, ANKRD40, MXRA7, FLJ20035, IL12RB1, RPL22, PLK1 /// RPL37A, CD69, TNFSF13 /// TNFSF12-, ASF1B, RPS28 /// LOC645899, PALMD, C10ORF56, RPS19, RPL13 /// LOC388344, CD34, RPS20, RNF139, TMEM57, C20ORF20, EMP1, EHMT2, CASP8AP2, CLEC2B, ALX4, FXYD5, JAKMIP2, RAB14
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	TSTA3, FAP, CKS2, MTHFD2, NME1, SOX4, SNRPF, HNRPA2B1, TRAF4, SSR1, MMP9, ILF2, CBX3, IFNGR2, CCT5, HSPD1, NCBP2, TOP2A, SSBP1, TARS, CDKN3, LDHA, PRDX4, CANX, PPP2R5C, PTMA, RBM4, MRPS12, PSMC4, KPNA2, SMARCA4, KIAA0101, KDELR2, UBE2S, PLK1, CRIP2, MCM3, G3BP, NONO, E2F5, TPX2, TGIF, CCT4, PAFAH1B3, HDAC1, AHCY, IARS, PSME2, HSPE1, OGT, DVL3, COPB2, MRPL3, COL1A2, TUBB, ARMET, PAICS, ACLY, CDC2, SNRPE, DDX48, NUP205, SDHC, RFC4

【０１３８】

【表２－７０】

標準名	PMID	著者
FLOTHO_CASP8AP2_MRD_DIFF	16627760	Flotho C, Coustan-Smith E, Pei D, Iwamoto S, Song G, Cheng C, Pui CH, Downing JR, Campana D
CANCER_NEOPLASTIC_META_UP	15184677	Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM

【０１３９】

【表２－７１】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1235	ヒト
STEMCELL_COMMON_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1645	マウス

【０１４０】

【表２－７２】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP		GENE_SYMBOL	c2
STEMCELL_COMMON_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０１４１】

【表２－７３】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	L2L John Newman	Washington University	OncoMine遺伝子発現データベースのメタ分析から、69個の遺伝子が一般的に良好に分化した癌と比較して未分化の癌においてアップレギュレートされていた
STEMCELL_COMMON_UP	L2L John Newman	Washington University	分化した脳および骨髄細胞と比較して、マウスの胚、神経および造血の幹細胞中で濃縮

【０１４２】

【表２－７４】

標準名	完全な説明
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	AB-多くの研究で、ヒト癌の遺伝子発現サインを同定するためにDNAマイクロアレイを使用してきたが、これらの臨床的特長、多くの場合は処理しきれないほど多数のサインが、定義困難なままである。これに対処するために、本発明者らは、マイクロアレイのデータ組の多様なコレクションから複数の遺伝子発現サインの共通部分を同定および評価する、統計的方法である比較メタプロファイリングを開発した。本発明者らは、>3700個の癌試料からの3800万個の遺伝子発現測定値を含む、40個の公開された癌のマイクロアレイのデータ組を収集および分析した。これから、本発明者らは、それが発生した正常組織と比較してほとんどの癌種において普遍的に活性化されている共通の転写プロファイルを特徴づけ、これは、新生物性形質転換の必須の転写特長を反映している可能性が高い。さらに、本発明者らは、様々な種類の未分化の癌で一般的に活性化されている転写プロファイルを特徴づけ、これにより、癌細胞が進行して分化を回避する共通の分子機構が示唆される。最後に、本発明者らは、これらの転写プロファイルを独立したデータ組に対して妥当性を確認した。
STEMCELL_COMMON_UP	AB-幹細胞の遺伝的プログラムを定義するために、マウスの胚、神経および造血の幹細胞の転写プロファイルを比較した。合計216個の遺伝子が3種類すべての幹細胞中で濃縮されており、これらの遺伝子のうちのいくつかがゲノム中でクラスタリングされている。分化した細胞種と比較した場合、幹細胞は、有意により多数の、その機能が不明の遺伝子(発現配列タグによって表される)を発現する。胚および神経の幹細胞は、転写レベルで多くの類似性を有する。これらの結果は、幹細胞生物学のより詳細な理解の基礎を提供する。

【０１４３】

【表２－７５】

標準名	メンバー
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	PSMD14, CKS1B, CKS2, FOXM1, MTHFD2, MAD2L1, IFI30, NME1, NCAPD2, SLC16A1, RAD21, MYBL2, ILF2, CCT6A, YBX1, DLG7, TOP2A, MCM6, ADRM1, SSBP1, H2AFX, CDKN3, GCLM, PRDX4, TRIP13, CDC6, NCAPH, EIF2S2, GGH, KIF23, KPNA2, DPM1, KIAA0101, TMSB10, POLR2K, UBE2S, KIF14, MCM2, MCM3, CENPA, GARS, CEBPG, EZH2, PSMD2, CTSL, BIRC5, KIF2C, SLC7A5, GPSM2, CDC20, HMGB2, H2AFZ, CCNA2, TUBB4, COL1A2, PCNA, TUBB, PSMB7, RPA3, GAS6, CDC2, UBE2C, MELK, SEC61B, CCNB1, TAP1, CXCL9, NUDT1, RFC4
STEMCELL_COMMON_UP	UBE2T, LAS1L, PRPSAP1, MDFIC, ERCC5, CPXM1, WDR43, PANX3, FHL1, ZNF639, DPH5, RYK, PSMD11, MRPS10, STAM, MKI67IP, TXNDC9, TXNRD1, EIF4EBP1, BLZF1, YWHAH, SNX12, WDR55, CAD, ITGA6, RPS6KB1, TOM1L1, PLA2G6, MTMR10, YAP1, SNRPC, XPOT, C4ORF28, C12ORF45, CHD1, SFRS6, ELOVL6, TGIF2, KLHL7, PSMD12, ADAM9, RFFL, MSH2, PEX7, SOCS2, PPP1R2, TBC1D15, MRPL17, DTYMK, ARCN1, WTAP, RARSL, USP10, CTTN, PCF11, SLC38A2, C19ORF2, MPHOSPH10, CTBP2, TBRG4, SLC4A7, ZZZ3, GAB1, C17ORF79, ANKRD17, PPIC, RABGGTB, NUP35, COPS7A, LAPTM4A, SMARCAD1, KCNAB3, RCN1, FKBP11, CIRH1A, MRPL34, TRIP6, EPRS, TARSL1, STRN3, JAGN1, MARCH7, IARS2, XPO1, RPP14, ZFX, MRPL3, CRTAP, XTP3TPA, RRN3, ZNF644, PAFAH2, GCAT, TJP1, SFRS3, RCL1, CRSP3, FLJ11021, CBR3, ALDH7A1, ZNF213, USP9X, MPDU1, YES1, PIGX, FLJ31951, GSTA4, RNF138, LSG1, DICER1, ITGB1, RAB18, SEC23A, MRPL45, WBP5, SMAD2, LIMA1, COPS4, NDUFAB1, C20ORF6, GCLM, SMAD1, GNL2, IMPAD1, KIF2A, ACADM, STXBP3, TPP2, MAP4K3, ZCCHC10, SUCLG2, BACH1, TEAD2, UBE2D2, FKBP9, GNB1, ZMYM4, EIF4G2, GRWD1, MRPS2, EIF3S1, MTERFD1, GARS, ARIH1, ZNF281, GAS2, PTPN2, UMPS, PHTF2, PPA1, FBXO38, PRPF6, SEC23IP, LAPTM4B, FBXO8, UPP1, IARS, RNF4, STATIP1, PLS3, RASA1, DDX1, RPUSD4, XRCC5, RPL22, PKD2, NOP5/NOP58, TXNL1, MDFI, YWHAB, ROCK2, DNAJB6, RAD23B, UTP20, MRPS31, ZMAT3, PDCD2, RSL1D1, CDKN1A, SH3D19, NDUFAF1

【０１４４】

【表２－７６】

標準名	メンバー記号化
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	PSMD14, CKS1B, CKS2, FOXM1, MTHFD2, MAD2L1, IFI30, NME1, NCAPD2, SLC16A1, RAD21, MYBL2, ILF2, CCT6A, YBX1, DLG7, TOP2A, MCM6, ADRM1, SSBP1, H2AFX, CDKN3, GCLM, PRDX4, TRIP13, CDC6, NCAPH, EIF2S2, GGH, KIF23, KPNA2, DPM1, KIAA0101, TMSB10, POLR2K, UBE2S, KIF14, MCM2, MCM3, CENPA, GARS, CEBPG, EZH2, PSMD2, CTSL, BIRC5, KIF2C, SLC7A5, GPSM2, CDC20, HMGB2, H2AFZ, CCNA2, TUBB4, COL1A2, PCNA, TUBB, PSMB7, RPA3, GAS6, CDC2, UBE2C, MELK, SEC61B, CCNB1, TAP1, CXCL9, NUDT1, RFC4
STEMCELL_COMMON_UP	UBE2T, LAS1L, PRPSAP1, MDFIC, ERCC5, CPXM1, WDR43, PANX3, FHL1, ZNF639, DPH5, RYK, PSMD11, MRPS10, STAM, MKI67IP, TXNDC9, TXNRD1, EIF4EBP1, BLZF1, YWHAH, SNX12, WDR55, CAD, ITGA6, RPS6KB1, TOM1L1, PLA2G6, MTMR10, YAP1, SNRPC, XPOT, C4ORF28, C12ORF45, CHD1, SFRS6, ELOVL6, TGIF2, KLHL7, PSMD12, ADAM9, RFFL, MSH2, PEX7, SOCS2, PPP1R2, TBC1D15, MRPL17, DTYMK, ARCN1, WTAP, RARSL, USP10, CTTN, PCF11, SLC38A2, C19ORF2, MPHOSPH10, CTBP2, TBRG4, SLC4A7, ZZZ3, GAB1, C17ORF79, ANKRD17, PPIC, RABGGTB, NUP35, COPS7A, LAPTM4A, SMARCAD1, KCNAB3, RCN1, FKBP11, CIRH1A, MRPL34, TRIP6, EPRS, TARSL1, STRN3, JAGN1, MARCH7, IARS2, XPO1, RPP14, ZFX, MRPL3, CRTAP, XTP3TPA, RRN3, ZNF644, PAFAH2, GCAT, TJP1, SFRS3, RCL1, CRSP3, FLJ11021, CBR3, ALDH7A1, ZNF213, USP9X, MPDU1, YES1, PIGX, FLJ31951, GSTA4, RNF138, LSG1, DICER1, ITGB1, RAB18, SEC23A, MRPL45, WBP5, SMAD2, LIMA1, COPS4, NDUFAB1, C20ORF6, GCLM, SMAD1, GNL2, IMPAD1, KIF2A, ACADM, STXBP3, TPP2, MAP4K3, ZCCHC10, SUCLG2, BACH1, TEAD2, UBE2D2, FKBP9, GNB1, ZMYM4, EIF4G2, GRWD1, MRPS2, EIF3S1, MTERFD1, GARS, ARIH1, ZNF281, GAS2, PTPN2, UMPS, PHTF2, PPA1, FBXO38, PRPF6, SEC23IP, LAPTM4B, FBXO8, UPP1, IARS, RNF4, STATIP1, PLS3, RASA1, DDX1, RPUSD4, XRCC5, RPL22, PKD2, NOP5/NOP58, TXNL1, MDFI, YWHAB, ROCK2, DNAJB6, RAD23B, UTP20, MRPS31, ZMAT3, PDCD2, RSL1D1, CDKN1A, SH3D19, NDUFAF1

【０１４５】

【表２－７７】

標準名	PMID	著者
CANCER_UNDIFFERENTIATED_META_UP	15184677	Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D, Barrette T, Pandey A, Chinnaiyan AM
STEMCELL_COMMON_UP	12228720	Ramalho-Santos M, Yoon S, Matsuzaki Y, Mulligan RC, Melton DA

【０１４６】

【表２－７８】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
BHATTACHARYA_ESC_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:726	ヒト

【０１４７】

【表２－７９】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
BHATTACHARYA_ESC_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０１４８】

【表２－８０】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
BHATTACHARYA_ESC_UP	Kate Stafford	Broad Institute	未分化のヒト胚幹細胞中でアップレギュレートされている遺伝子。

【０１４９】

【表２－８１】

標準名	完全な説明
BHATTACHARYA_ESC_UP	AB-ヒト胚幹(huES)細胞は様々な細胞系統へと分化する能力を有しており、多くの治療上の使用のための分化した細胞の供給源を潜在的に提供する。しかし、huES細胞の分化の機構および細胞の発生を調節する因子についてはほとんど知られていない。本発明者らは、16 659 70-塩基対のオリゴヌクレオチドを含有する高品質のマイクロアレイを使用して、利用可能な11個のうちの6個のhuES細胞系における遺伝子発現を調査した。発現を、複数の組織からのプールしたRNA(ユニバーサルRNA)に対して比較し、huES細胞中で濃縮されていた遺伝子を同定した。6個の細胞系すべてが未分化状態の複数のマーカーを発現し、遺伝子発現の有意な相同性を共有していた(全体的な類似度の係数>0.85)。92個の遺伝子の共通のサブセットが同定され、これにはNanog GTCM-1コネキシン43(GJA1)、オクタ-4およびTDGF1(cripto)が含まれていた。遺伝子発現は、データベースとの比較、逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応、集中cDNAマイクロアレイおよび免疫細胞化学を含めた様々な技法によって確認した。公開されている「幹細胞性」遺伝子との比較により、限定的な重複が明らかとなり、これは、他の幹細胞集団との類似度がわずかしかないことを示唆している。いくつかの新規のES細胞特異的発現配列タグが同定され、ヒトゲノムにマッピングした。これらの結果は、未分化のhuES細胞の最初の詳細な特徴づけを表し、huES細胞の生物学をプロファイリングし、より良好に理解するためのユニークなマーカー組を提供する。

【０１５０】

【表２－８２】

標準名	メンバー
BHATTACHARYA_ESC_UP	ARL8, ZNF257, BRIX, KRT18, MTHFD2, KIAA1573, STK12, ZNF43, SNRPF, SLC16A1, RPS24, HDAC2, DSG2, IMP-2, HMGIY, MGC27165, TNNT1, MAD2L2, HSSG1, RPL4, MGST1, FLJ12581, RPLP0, FABP5, PITX2, HNRPA1(C20orf168), ELOVL6, GJA1, HSPA4, GDF3, SERPINH1, LRRN1, ZNF117, HNRPAB, SMS, KPNA2, PPAT, ACTC, KRT8, C20orf129, リボソーム40Aラミン受容体, SPS, TDGF1, NBR2, RPL7, PSIP1, NASP, CRABP2, TUBB-5, CYP26A1, LIN-28, RPL6, CCT8, GAL, CRABP1, TUBB-4, NME2, EPRS, LDHB, GSH1, LAPTM4B, CALU, NS, MTHFD1, CCNC, TD-60, HMGB2, SSB, C15orf15, Jade-1, Numatrin, CDC2, PODXL, EIF4A1, PSMA2, SFRP2, RAMP, IDH1, LEFTB, SET, CCNB1, PSMA3, TK1, DDX21, PTTG1, RPL24, C20orf1/TPX2, KIF4A, POU5F1/Oct4, IMPDH2, SEMA6A, NPM1

【０１５１】

【表２－８３】

標準名	メンバー記号化
BHATTACHARYA_ESC_UP	ARL8, ZNF257, BRIX, KRT18, MTHFD2, KIAA1573, STK12, ZNF43, SNRPF, SLC16A1, RPS24, HDAC2, DSG2, IMP-2, HMGIY, MGC27165, TNNT1, MAD2L2, HSSG1, RPL4, MGST1, FLJ12581, RPLP0, FABP5, PITX2, HNRPA1(C20orf168), ELOVL6, GJA1, HSPA4, GDF3, SERPINH1, LRRN1, ZNF117, HNRPAB, SMS, KPNA2, PPAT, ACTC, KRT8, C20orf129, リボソーム40Aラミン受容体, SPS, TDGF1, NBR2, RPL7, PSIP1, NASP, CRABP2, TUBB-5, CYP26A1, LIN-28, RPL6, CCT8, GAL, CRABP1, TUBB-4, NME2, EPRS, LDHB, GSH1, LAPTM4B, CALU, NS, MTHFD1, CCNC, TD-60, HMGB2, SSB, C15orf15, Jade-1, Numatrin, CDC2, PODXL, EIF4A1, PSMA2, SFRP2, RAMP, IDH1, LEFTB, SET, CCNB1, PSMA3, TK1, DDX21, PTTG1, RPL24, C20orf1/TPX2, KIF4A, POU5F1/Oct4, IMPDH2, SEMA6A, NPM1

【０１５２】

【表２－８４】

標準名	PMID	著者
BHATTACHARYA_ESC_UP	15070671	Bhattacharya B, Miura T, Brandenberger R, Mejido J, Luo Y, Yang AX, Joshi BH, Ginis I, Thies RS, Amit M, Lyons I, Condie BG, Itskovitz-Eldor J, Rao MS, Puri RK

【０１５３】

【表２－８５】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:931	ヒト

【０１５４】

【表２－８６】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL		AFFYMETRIX	c2

【０１５５】

【表２－８７】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	Kevin Vogelsang	Broad Institute	骨髄の細胞増殖および自己複製に関連する遺伝子

【０１５６】

【表２－８８】

標準名	完全な説明
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	AB-正常および白血病性の骨髄造血中の増殖および自己複製と成長抑制および分化との間のバランスを制御する機構は理解されていない。本発明者らは、示差的なシグナル伝達および白血病誘発活性を有する骨髄造血サイトカインおよび顆粒球マクロファージ-コロニー刺激因子(GM-CSF)受容体の活性突然変異体に応答性の二分化能のFDB1骨髄細胞系モデルを使用した。このモデルは大スケールの遺伝子プロファイリングに適しており、本発明者らは、要因経時変化設計を用いて実質的かつ強力なデータ組を作成した。直線モデリングを用いて、連続的な増殖分化または白血病の受容体シグナル伝達に関連する遺伝子発現の変化を同定した。本発明者らは、転写因子プロファイルを変化させることで骨髄の成長および分化を調節する潜在性を有する一組の新規遺伝子が定義されることに注目し、FDB1細胞系モデルが本研究で同定された癌遺伝子の強制発現に応答性であることを実証した。また、本発明者らは、遺伝子発現の変化が白血病のGM-CSF受容体突然変異体V449Eと特異的に関連していることも同定した。この受容体突然変異体からのシグナル伝達は、CCAAT/エンハンサー結合タンパク質アルファ(C/EBPアルファ)標的遺伝子をダウンレギュレートし、遺伝子発現プロファイリングによって以前に定義された特異的な急性骨髄白血病サインに特徴的であり、C/EBPアルファ突然変異に関連している変化を生じる。

【０１５７】

【表２－８９】

標準名	メンバー
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	Zfpn1a2, Mgl1, Ankrd10, U66667, BC011467, Papss2, Nt5c3, Zfpn1a4, F2r, H2-Eb1, Kcnk5, Z12375, Ahcy, U26789, Aqp9, Nme1, 2810026P18Rik, Z12540, Trim28, Slc1a5, 2810028N01Rik, Bin1, Rcor2, Ppef2, 2410004N09Rik, Pcx, Cpa3, M55696, Ide, Mep1b, 4932438H23Rik, Tnfsf11, Fcer1a, Oact2, Ivns1abp, Sfrs7, H2-Ea, BC003986, Txk, Sept1, Msh2, Npm1, Mat1a, Mfng, Gata2, Tyms-ps, 1810014L12Rik, Fbxw4, Cct6a, U54534, Z12266, Slc7a8, Npl, P2ry10, Nsun2, C1qbp, Gna1, Wdr43, 4930555B11Rik, Eif4e, Odc1, Tcrb-V8.2, Nrip1, Pdir, 5830474E16Rik, Bzw2, Cdh17, F2rl3, Cdk4, Gtpbp4, Lama5, Z12248, Trf, 2310066E14Rik, Rpol-2, Hsp105, Z12249, Ppan, BC029169, Sod1, 4933415F23Rik, Nrgn, St6gal1, 4930485D02Rik, Rcl1, 8430438D04Rik, Timm8a, St7, Slc16a1, Fut7, D13Wsu177e, Tcrb-V13, Z22043, Akr1c12, Z12552, 1300007C21Rik, Rgs5, Akr1c13, Z12259, Stc2, Sytl3, Nol5a, Rpl23, 5830405N20Rik, Ptpn9, Pgrmc1, Xpot, Ruvbl2, Psat1, Z12246, Mgat5, Slc7a5, Trim37, Spint2, Msi2h, Nutf2, Mcpt8, Cbfa2t3h, Gart, Emx2, Erh, Apex1, Nars, Sf3b3, H2-Aa, F9, Ncl, Galnact2, H2-Ab1, Slc22a3, Fkbp4, Klra15, Tex292, Sox4, Gas5, 1500012F01Rik, 4930535E02Rik, D13Ertd275e, Rab27b, Smarcc1, Myb, Fut8, Ctla2a, Ssr3, Hspd1, Nol5, Shmt2, Rif1, Aasdhppt, MGI:1929091, NM026110, Hmgn1, Calr, Osbp13, Cyp11a1, Gpr56, Nolc1, Ifitm3, C330027I04Rik, Cd48, Serpina3g

【０１５８】

【表２－９０】

標準名	メンバー記号化
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	Zfpn1a2, Mgl1, Ankrd10, U66667, BC011467, Papss2, Nt5c3, Zfpn1a4, F2r, H2-Eb1, Kcnk5, Z12375, Ahcy, U26789, Aqp9, Nme1, 2810026P18Rik, Z12540, Trim28, Slc1a5, 2810028N01Rik, Bin1, Rcor2, Ppef2, 2410004N09Rik, Pcx, Cpa3, M55696, Ide, Mep1b, 4932438H23Rik, Tnfsf11, Fcer1a, Oact2, Ivns1abp, Sfrs7, H2-Ea, BC003986, Txk, Sept1, Msh2, Npm1, Mat1a, Mfng, Gata2, Tyms-ps, 1810014L12Rik, Fbxw4, Cct6a, U54534, Z12266, Slc7a8, Npl, P2ry10, Nsun2, C1qbp, Gna1, Wdr43, 4930555B11Rik, Eif4e, Odc1, Tcrb-V8.2, Nrip1, Pdir, 5830474E16Rik, Bzw2, Cdh17, F2rl3, Cdk4, Gtpbp4, Lama5, Z12248, Trf, 2310066E14Rik, Rpol-2, Hsp105, Z12249, Ppan, BC029169, Sod1, 4933415F23Rik, Nrgn, St6gal1, 4930485D02Rik, Rcl1, 8430438D04Rik, Timm8a, St7, Slc16a1, Fut7, D13Wsu177e, Tcrb-V13, Z22043, Akr1c12, Z12552, 1300007C21Rik, Rgs5, Akr1c13, Z12259, Stc2, Sytl3, Nol5a, Rpl23, 5830405N20Rik, Ptpn9, Pgrmc1, Xpot, Ruvbl2, Psat1, Z12246, Mgat5, Slc7a5, Trim37, Spint2, Msi2h, Nutf2, Mcpt8, Cbfa2t3h, Gart, Emx2, Erh, Apex1, Nars, Sf3b3, H2-Aa, F9, Ncl, Galnact2, H2-Ab1, Slc22a3, Fkbp4, Klra15, Tex292, Sox4, Gas5, 1500012F01Rik, 4930535E02Rik, D13Ertd275e, Rab27b, Smarcc1, Myb, Fut8, Ctla2a, Ssr3, Hspd1, Nol5, Shmt2, Rif1, Aasdhppt, MGI:1929091, NM026110, Hmgn1, Calr, Osbp13, Cyp11a1, Gpr56, Nolc1, Ifitm3, C330027I04Rik, Cd48, Serpina3g

【０１５９】

【表２－９１】

標準名	PMID	著者
BROWN_MYELOID_PROLIF_AND_SELF_RENEWAL	16769770	Brown AL, Wilkinson CR, Waterman SR, Kok CH, Salerno DG, Diakiw SM, Reynolds B, Scott HS, Tsykin A, Glonek GF, Goodall GJ, Solomon PJ, Gonda TJ, D'Andrea RJ

【０１６０】

【表２－９２】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1498	マウス
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1132	ヒト

【０１６１】

【表２－９３】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
IDX_TSA_DN_CLUSTER2		GENE_SYMBOL	c2
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN		GENE_SYMBOL	c2

【０１６２】

【表２－９４】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	L2L John Newman	Washington University	分化を防止するためにIDX+TSAで処理した線維芽細胞(クラスター2)に対して、DX(インスリン、デキサメタゾンおよびイソブチルキサンチン)を用いた3T3-L1線維芽細胞から脂肪細胞への分化中の8～96時間で進行的にダウンレギュレート
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	L2L John Newman	Washington University	未処理のhMSC細胞(クラスVIII)に対して、ヒト骨髄間葉幹細胞(hMSC)から脂肪細胞への分化後の1～14日間にダウンレギュレート

【０１６３】

【表２－９５】

標準名	完全な説明
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	AB-細胞の分化および発生中、前駆細胞が所定の系統に向かうように指示する際に、多くの複雑な分子機構および示差的に発現される遺伝子の正確なパターンが起こることが理解されている。マイクロアレイに基づいた技術を用いて、本発明者らは、3T3-L1脂肪細胞の分化の過程における遺伝子発現を検査した。全細胞RNAを、分化の標準のホルモン誘導剤であるインスリン、デキサメタゾン、イソブチルメチルキサンチン(IDX)、またはIDX+トリコスタチンA(TsA)、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤および強力な脂肪生成阻害剤のどちらかで処理した0、2、8、16、24、48および96時間後の時点で単離した。cRNAを細胞RNAから合成し、12 488 cDNA/発現配列タグ(EST)プローブ組を含有する高密度Affymetrix MG_U74Av2マイクロアレイ遺伝子チップにハイブリダイズさせた。IDXのみで処理した細胞から、0時点の前脂肪細胞に対して分化の全体にわたって変化なしまたは2倍未満で示差的に発現されたすべてのプローブ組を、さらなる分析から排除した。この選択の結果、正味1686個の転写物のうち、859個は発現が増加し、827個は分化にわたって発現が少なくとも2倍減少した。分化に対してより特異的な遺伝子に焦点と当てるために、同じ分析をIDX+TsAで処理した非分化細胞で行い、非分化のTsAで処理した群中で同様の発現プロファイルを示した、IDXのみの群からのすべてのプローブ組を排除して、分化条件下でのみ調節された合計1016個の転写物が残った。0時点の前脂肪細胞に対して、これらの転写物のうちの636個は発現が少なくとも2倍上昇しており、380個は発現の減少を示した。この遺伝子群を、階層的クラスタリングおよび自己組織化マップを用いてさらに分析して、脂肪細胞の分化中に調節されることが以前は知られていなかった数々の遺伝子の同定がもたらされた。これらの遺伝子の多くが、新規の脂肪生成媒介因子および脂肪生成マーカーとなる可能性が十分にある。
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	AB-ヒト骨髄間葉幹細胞(hMSC)は、脂肪生成ホルモンに応答して脂肪細胞を生じさせる。3400個の遺伝子を表すインハウスのcDNAマイクロアレイを用いて、このプロセスに関与する遺伝子の変調を特徴づけた。転写調節因子およびシグナル伝達分子をコードしている遺伝子を含めた合計197個の遺伝子が、脂肪生成中に時間的な遺伝子発現の変化を示した。半定量的RT-PCR分析により、cDNAマイクロアレイスクリーニングによって同定されたいくつかの遺伝子の示差的発現が、転写レベルで確認された。hMSCの脂肪生成の後期(7日目から14日目まで)中に調節された遺伝子のクラスター分析により、これらの変化が、ネズミ前脂肪細胞について以前に報告されているデータと良好に相関していることが示された。しかし、初期では(1日目～5日目)、遺伝子の変調は、前脂肪細胞について報告されているものとは異なっていた。これらのデータは、hMSCの脂肪生成に付随する系統拘束および成熟に必要な分子機構に関する新規情報を提供する。

【０１６４】

【表２－９６】

標準名	メンバー
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	USP22, PLTP, PTGIS, PPGB, OGN, RPS6KA4, ANXA5, NCAM1, ACTA2, WBP5, BDNF, CD99, FGF7, PRDX4, MAP1LC3B, TWIST2, LEPROT, LOX, TINP1, PDLIM7, FAM91A1, SLC38A4, VCL, PGCP, ASAH1, PLXNB2, TMSB10, GNB1, PHLDB2, LAMP2, ITGAV, LOC653503, ANXA3, DSTN, MYH9, EMP3, GBA, CMTM3, F2R, PRSS23, PLA2G7, RAB31, SCPEP1, VCAM1, ZFP36L2, PDPN, BAX, EPPB9, SLC1A4, CD276, SLC7A5, SERPINF1, TES, COL4A5, PRAF2, TSPAN6, CAP1, PLD3, SMAD6, NQO2, MSN, SKI, SERTAD1, LOC440525, FXYD5, CAPG
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	CYR61, COL15A1, SCYE1, RGS4, BASP1, IGFBP3, IER2, TNFRSF11B, HCK, SLC7A5, SERPINE1, TMEM47, HAPLN1, THBS2, C5ORF13, ABI3BP, LOX, LRP3, COL9A3, MYH11, ITGA3, SRPK2, STK38L, GDF15, SERPINE2, NT5E, SMAD3, ZNF133, ACTG2, TPM1, KRR1, POSTN

【０１６５】

【表２－９７】

標準名	メンバー記号化
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	USP22, PLTP, PTGIS, PPGB, OGN, RPS6KA4, ANXA5, NCAM1, ACTA2, WBP5, BDNF, CD99, FGF7, PRDX4, MAP1LC3B, TWIST2, LEPROT, LOX, TINP1, PDLIM7, FAM91A1, SLC38A4, VCL, PGCP, ASAH1, PLXNB2, TMSB10, GNB1, PHLDB2, LAMP2, ITGAV, LOC653503, ANXA3, DSTN, MYH9, EMP3, GBA, CMTM3, F2R, PRSS23, PLA2G7, RAB31, SCPEP1, VCAM1, ZFP36L2, PDPN, BAX, EPPB9, SLC1A4, CD276, SLC7A5, SERPINF1, TES, COL4A5, PRAF2, TSPAN6, CAP1, PLD3, SMAD6, NQO2, MSN, SKI, SERTAD1, LOC440525, FXYD5, CAPG
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	CYR61, COL15A1, SCYE1, RGS4, BASP1, IGFBP3, IER2, TNFRSF11B, HCK, SLC7A5, SERPINE1, TMEM47, HAPLN1, THBS2, C5ORF13, ABI3BP, LOX, LRP3, COL9A3, MYH11, ITGA3, SRPK2, STK38L, GDF15, SERPINE2, NT5E, SMAD3, ZNF133, ACTG2, TPM1, KRR1, POSTN

【０１６６】

【表２－９８】

標準名	PMID	著者
IDX_TSA_DN_CLUSTER2	15033539	Burton GR, Nagarajan R, Peterson CA, McGehee RE Jr
ADIPOGENESIS_HMSC_CLASS8_DN	12646203	Nakamura T, Shiojima S, Hirai Y, Iwama T, Tsuruzoe N, Hirasawa A, Katsuma S, Tsujimoto G

【０１６７】

【表２－９９】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
CTNNB1_oncogenic_signature	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1791	ヒト
WNT_TARGETS	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:802	ヒト

【０１６８】

【表２－１００】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
CTNNB1_oncogenic_signature		HG_U133_Plus_2	c2
WNT_TARGETS	http://www.stanford.edu/~rnusse/wntwindow.html	SEQ_ACCESSION	c2

【０１６９】

【表２－１０１】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
CTNNB1_oncogenic_signature	Arthur Liberzon	Broad Institute	活性ベータ-カテニン(CTNNB1)癌遺伝子を発現する細胞を、GFPを発現する対照細胞から識別するために、教師あり分析で選択された遺伝子。
WNT_TARGETS	Yujin Hoshida	Broad Institute	文献からのWNT標的遺伝子

【０１７０】

【表２－１０２】

標準名	完全な説明
CTNNB1_oncogenic_signature	著者らは、一次乳腺上皮細胞培養物(HMEC)を用いて一連の経路サインを開発した。著者らは、組換えアデノウイルスを用いて、そうでなければ休止状態の細胞においてヒト活性ベータ-カテニンの発現を強制し、それにより、この単一の経路の活性化/調節解除によって定義される続く事象を特異的に単離した。複数の独立した感染からのRNAを、Affymetrix HG_U133_Plus_2アレイを用いてDNAマイクロアレイ分析用に収集した。CTNNB1誘導性の経路の活性を反映する遺伝子発現サインは、[PMID:11562467]に記載の教師あり分類方法を用いて同定した。分析により、発現レベルと、HMEC試料のベータ-カテニン活性化/調節解除対対照(緑色蛍光タンパク質の強制発現)への分類とが最も高く相関している一組の遺伝子が選択される。
WNT_TARGETS	

【０１７１】

【表２－１０３】

標準名	メンバー
CTNNB1_oncogenic_signature	235009_at, 211671_s_at, 213350_at, 1560318_at, 212355_at, 223139_s_at, 1569594_a_at, 207700_s_at, 222760_at, 203509_at, 217277_at, 1557081_at, 209257_s_at, 216563_at, 1554260_a_at, 226799_at, 212560_at, 203147_s_at, 211343_s_at, 244287_at, 212794_s_at, 235388_at, 222122_s_at, 225098_at, 213637_at, 225097_at, 236241_at, 226094_at, 241464_s_at, 207002_s_at, 1555673_at, 201865_x_at, 213328_at, 208859_s_at, 228315_at, 223380_s_at, 1558173_a_at, 225116_at, 222728_s_at, 232094_at, 244677_at, 1555920_at, 218796_at, 233204_at, 229422_at, 213850_s_at, 209318_x_at, 229958_at, 222696_at, 212044_s_at, 210057_at, 208901_s_at, 224250_s_at, 212996_s_at, 229846_s_at, 203255_at, 210118_s_at, 241617_x_at, 212492_s_at, 221900_at, 212994_at, 228180_at, 208953_at, 210178_x_at, 225021_at, 60474_at, 222667_s_at, 206108_s_at, 200842_s_at, 203304_at, 204048_s_at, 209457_at, 235209_at, 215646_s_at, 1568408_x_at, 232231_at, 1555945_s_at, 214814_at, 212263_at, 1562416_at, 222747_s_at, 212177_at, 206504_at, 202648_at, 213478_at, 213352_at, 219024_at, 210355_at, 202643_s_at, 212692_s_at, 222227_at, 222834_s_at, 229115_at, 212420_at, 218150_at, 208900_s_at, 227475_at, 244075_at
WNT_TARGETS	PLAUR, FOSL1, FGF18, ATOH1, CD44, JUN, NRCAM, FST, EFNB1, MET, CCND1, MMP7, BIRC5, FOXN1, FZD7, IGSF4C, LEF1, VEGF, PPARD, CLDN1, MMP26, ID2 /// ID2B, ID2, BMP4, GAST

【０１７２】

【表２－１０４】

標準名	メンバー記号化
CTNNB1_oncogenic_signature	FAM44A, NR3C1, RPS11, ARHGAP29, KIAA0323, DHX36, SDCCAG1, NCOA3, ZNF703, SORL1, RBM25, SMC3, ANKRD12, FRYL, C11ORF32, TRIM14, COL13A1, SFRS12, KIAA1033, CHD9, THOC2, ABI2, HIPK2, MED31, PIK3C2A, FLJ27365, PLAGL1, KRTAP2-1, NEK1, ATRX /// LOC642995, LATS2, LUZP1, JOSD3, C15ORF29, PER1, CBX3, C20ORF42, FLJ11903, NRD1, SFRS2IP, C8ORF61, AXIN2, RPL27A, SMG1, TOP1, SECISBP2, C21ORF108, MAPKAP1, FBXO11, IL1A, JMJD2B, COL8A2, SMU1, LARP5, FUSIP1 /// LOC642558, ZNF532, ASH1L, SFRS6, EPRS, BAMBI, PHACTR2, DUSP5, RPESP, CSPG2, RUNX2, FAM120A, YTHDC1, QKI, FLNB, SCML1, C6ORF111, CYP24A1, RPS19, KIAA1026, TMCC1, PLEKHA1, PTHLH, TNFAIP3, LRBA, ZNF236, GNG12, DYNC1H1, ELF1, ARL5A, FOXQ1, LOC158160
WNT_TARGETS	PLAUR, FOSL1, FGF18, ATOH1, CD44, JUN, NRCAM, FST, EFNB1, MET, CCND1, MMP7, BIRC5, FOXN1, FZD7, IGSF4C, LEF1, VEGF, PPARD, CLDN1, MMP26, ID2 /// ID2B, ID2, BMP4, GAST

【０１７３】

【表２－１０５】

標準名	PMID	著者
CTNNB1_oncogenic_signature	16273092	Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR.
WNT_TARGETS		

【０１７４】

【表２－１０６】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
TGFBETA_C4_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1662	ヒト

【０１７５】

【表２－１０７】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
TGFBETA_C4_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０１７６】

【表２－１０８】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
TGFBETA_C4_UP	L2L John Newman	Washington University	皮膚線維芽細胞、クラスター４のＴＧＦ－ベータ処理によってアップレギュレート

【０１７７】

【表２－１０９】

標準名	完全な説明
TGFBETA_C4_UP	AB-Smad経路を介したトランスフォーミング成長因子-ベータ(TGF-ベータ)のシグナル伝達の詳細な機構の理解の大きな進歩にもかかわらず、直接の標的遺伝子の同定にはわずかな進歩しかなされていない。cDNAマイクロアレイを用いた本報告では、本発明者らは、ヒト皮膚線維芽細胞中のTGF-ベータによって急速に誘導される細胞外マトリックス関連の遺伝子の特徴づけに注目しており、TGF-ベータによるアップレギュレーションがSmadに媒介されるものの同定を試みた。遺伝子が直接のSmad標的として認定されるためには、本発明者らは、それが以下の基準を満たさなければならないと仮定した:(1)TGF-ベータで刺激した際に、迅速(30分間)かつ有意(少なくとも2倍)の、安定状態のmRNAレベルの上昇、(2)外因性TGF-ベータおよび同時形質移入したSmad3発現ベクターの両方による、プロモーターの活性化、(3)ドミナントネガティブなSmad3および阻害性Smad7発現ベクターの両方によって遮断されたTGF-ベータによる、プロモーター活性のアップレギュレーション、ならびに(4)Smad3(-/-)マウス胚線維芽細胞では可能でない、TGF-ベータによるプロモーターのトランス活性化。このストリンジェントな手法を用いて、本発明者らは、COL1A2、COL3A1、COL6A1、COL6A3およびメタロプロテアーゼの組織阻害剤-1を、限定的なTGF-ベータ/Smad3標的として同定した。この手法を他の細胞外マトリックス関連の遺伝子プロモーターに外挿することで、COL1A1およびCOL5A2も新規Smad標的として同定されたが、COL6A2は同定されなかった。総合すると、これらの結果は、線維芽細胞における新規の初期に誘導されるSmad依存性TGF-ベータ標的遺伝子の同定に向けた重要なステップとなる。

【０１７８】

【表２－１１０】

標準名	メンバー
TGFBETA_C4_UP	THBS1, EPHB2, COL16A1, MMP17, MMP1, TNC, MTA1, PAK2, LAMB1, RAC1, THBS2

【０１７９】

【表２－１１１】

標準名	メンバー記号化
TGFBETA_C4_UP	THBS1, EPHB2, COL16A1, MMP17, MMP1, TNC, MTA1, PAK2, LAMB1, RAC1, THBS2

【０１８０】

【表２－１１２】

標準名	PMID	著者
TGFBETA_C4_UP	11279127	Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A

【０１８１】

【表２－１１３】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
TGFBETA_EARLY_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1664	ヒト

【０１８２】

【表２－１１４】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
TGFBETA_EARLY_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０１８３】

【表２－１１５】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
TGFBETA_EARLY_UP	L2L John Newman	Washington University	30分での皮膚線維芽細胞(クラスター1～3)のTGF-ベータ処理によってアップレギュレート

【０１８４】

【表２－１１６】

標準名	完全な説明
TGFBETA_EARLY_UP	AB-Smad経路を介したトランスフォーミング成長因子-ベータ(TGF-ベータ)のシグナル伝達の詳細な機構の理解の大きな進歩にもかかわらず、直接の標的遺伝子の同定にはわずかな進歩しかなされていない。cDNAマイクロアレイを用いた本報告では、本発明者らは、ヒト皮膚線維芽細胞中のTGF-ベータによって急速に誘導される細胞外マトリックス関連の遺伝子の特徴づけに注目しており、TGF-ベータによるアップレギュレーションがSmadに媒介されるものの同定を試みた。遺伝子が直接のSmad標的として認定されるためには、本発明者らは、それが以下の基準を満たさなければならないと仮定した:(1)TGF-ベータで刺激した際に、迅速(30分間)かつ有意(少なくとも2倍)の、安定状態のmRNAレベルの上昇、(2)外因性TGF-ベータおよび同時形質移入したSmad3発現ベクターの両方による、プロモーターの活性化、(3)ドミナントネガティブなSmad3および阻害性Smad7発現ベクターの両方によって遮断されたTGF-ベータによる、プロモーター活性のアップレギュレーション、ならびに(4)Smad3(-/-)マウス胚線維芽細胞では可能でない、TGF-ベータによるプロモーターのトランス活性化。このストリンジェントな手法を用いて、本発明者らは、COL1A2、COL3A1、COL6A1、COL6A3およびメタロプロテアーゼの組織阻害剤-1を、限定的なTGF-ベータ/Smad3標的として同定した。この手法を他の細胞外マトリックス関連の遺伝子プロモーターに外挿することで、COL1A1およびCOL5A2も新規Smad標的として同定されたが、COL6A2は同定されなかった。総合すると、これらの結果は、線維芽細胞における新規の初期に誘導されるSmad依存性TGF-ベータ標的遺伝子の同定に向けた重要なステップとなる。

【０１８５】

【表２－１１７】

標準名	メンバー
TGFBETA_EARLY_UP	MMP3, MARCKSL1, IGF2R, CD44, EPHB3, PXN, SPARC, PLAT, FN1, IGFBP3, RHOA, MMP19, PAK1, NID1, TIMP1, RHOQ, SERPINE1, CSPG2, CD59, RHOB, JUP, COL6A3, NOTCH2, BSG, COL1A2, ZYX, ITGA3, TCF7L2, RND3, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, HSPG2, ITGB5, RHOG, ICAM1, IGFBP5, LAMA4, DVL1, ARHGDIA, ITGB2, LRP1, COL6A1, IGFBP2, LRRC17, MMP14

【０１８６】

【表２－１１８】

標準名	メンバー記号化
TGFBETA_EARLY_UP	MMP3, MARCKSL1, IGF2R, CD44, EPHB3, PXN, SPARC, PLAT, FN1, IGFBP3, RHOA, MMP19, PAK1, NID1, TIMP1, RHOQ, SERPINE1, CSPG2, CD59, RHOB, JUP, COL6A3, NOTCH2, BSG, COL1A2, ZYX, ITGA3, TCF7L2, RND3, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, HSPG2, ITGB5, RHOG, ICAM1, IGFBP5, LAMA4, DVL1, ARHGDIA, ITGB2, LRP1, COL6A1, IGFBP2, LRRC17, MMP14

【０１８７】

【表２－１１９】

標準名	PMID	著者
TGFBETA_EARLY_UP	11279127	Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A

【０１８８】

【表２－１２０】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
TGFBETA_ALL_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1658	ヒト
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1789	ヒト

【０１８９】

【表２－１２１】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
TGFBETA_ALL_UP		GENE_SYMBOL	c2
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE		HG_U133_Plus_2	c2

【０１９０】

【表２－１２２】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
TGFBETA_ALL_UP	L2L John Newman	Washington University	任意の時点での皮膚線維芽細胞のTGF-ベータ処理によってアップレギュレート
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	Arthur Liberzon	Broad Institute	活性H-Ras癌遺伝子を発現する細胞を、GFPを発現する対照細胞から識別するために、教師あり分析で選択された遺伝子。

【０１９１】

【表２－１２３】

標準名	完全な説明
TGFBETA_ALL_UP	AB-Smad経路を介したトランスフォーミング成長因子-ベータ(TGF-ベータ)のシグナル伝達の詳細な機構の理解の大きな進歩にもかかわらず、直接の標的遺伝子の同定にはわずかな進歩しかなされていない。cDNAマイクロアレイを用いた本報告では、本発明者らは、ヒト皮膚線維芽細胞中のTGF-ベータによって急速に誘導される細胞外マトリックス関連の遺伝子の特徴づけに注目しており、TGF-ベータによるアップレギュレーションがSmadに媒介されるものの同定を試みた。遺伝子が直接のSmad標的として認定されるためには、本発明者らは、それが以下の基準を満たさなければならないと仮定した:(1)TGF-ベータで刺激した際に、迅速(30分間)かつ有意(少なくとも2倍)の、安定状態のmRNAレベルの上昇、(2)外因性TGF-ベータおよび同時形質移入したSmad3発現ベクターの両方による、プロモーターの活性化、(3)ドミナントネガティブなSmad3および阻害性Smad7発現ベクターの両方によって遮断されたTGF-ベータによる、プロモーター活性のアップレギュレーション、ならびに(4)Smad3(-/-)マウス胚線維芽細胞では可能でない、TGF-ベータによるプロモーターのトランス活性化。このストリンジェントな手法を用いて、本発明者らは、COL1A2、COL3A1、COL6A1、COL6A3およびメタロプロテアーゼの組織阻害剤-1を、限定的なTGF-ベータ/Smad3標的として同定した。この手法を他の細胞外マトリックス関連の遺伝子プロモーターに外挿することで、COL1A1およびCOL5A2も新規Smad標的として同定されたが、COL6A2は同定されなかった。総合すると、これらの結果は、線維芽細胞における新規の初期に誘導されるSmad依存性TGF-ベータ標的遺伝子の同定に向けた重要なステップとなる。
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	著者らは、一次哺乳動物上皮細胞培養物(HMEC)を用いて一連の経路サインを開発した。著者らは、組換えアデノウイルスを用いて、そうでなければ休止(quisecent)状態の細胞においてヒト活性H-Rasの発現を強制し、それにより、この単一の経路の活性化/調節解除によって定義される続く事象を特異的に単離した。複数の独立した感染からのRNAを、Affymetrix HG_U133_Plus_2アレイを用いてDNAマイクロアレイ分析用に収集した。RAS誘導性の経路の活性を反映する遺伝子発現サインは、[PMID:11562467]に記載の教師あり分類方法を用いて同定した。分析により、発現レベルと、HMEC試料のH-Ras活性化/調節解除対対照(緑色蛍光タンパク質の強制発現)への分類とが最も高く相関している一組の遺伝子が選択される。

【０１９２】

【表２－１２４】

標準名	メンバー
TGFBETA_ALL_UP	MMP3, MARCKSL1, IGF2R, LAMB1, SPARC, FN1, ITGA4, SMO, MMP19, ITGB8, ITGA5, NID1, TIMP1, SEMA3F, RHOQ, CTNNB1, MMP2, SERPINE1, EPHB2, COL16A1, EPHA2, TNC, JUP, ITGA3, TCF7L2, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, DSP, HSPG2, ARHGAP1, ITGB5, IGFBP5, ARHGDIA, LRP1, IGFBP2, CTNNA1, LRRC17, MMP14, NEO1, EFNA5, ITGB3, EPHB3, CD44, IGFBP4, TNFRSF1A, RAC1, PXN, PLAT, COL8A1, WNT8B, IGFBP3, RHOA, EPHB4, MMP1, PAK1, MTA1, THBS2, CSPG2, MMP17, CD59, DVL3, RHOB, COL6A3, NOTCH2, BSG, MMP11, COL1A2, ZYX, RND3, THBS1, RHOG, ICAM1, LAMA4, DVL1, PAK2, ITGB2, COL6A1, FGD1
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	201286_at, 235077_at, 1554997_a_at, 1558517_s_at, 228498_at, 225950_at, 226177_at, 1568513_x_at, 219403_s_at, 213030_s_at, 229817_at, 201490_s_at, 209720_s_at, 212242_at, 217608_at, 226120_at, 1552648_a_at, 202332_at, 46665_at, 212943_at, 204720_s_at, 215707_s_at, 203625_x_at, 209453_at, 202696_at, 225612_s_at, 209281_s_at, 224480_s_at, 215243_s_at, 229004_at, 221840_at, 238058_at, 228527_s_at, 218451_at, 1555950_a_at, 204614_at, 1553995_a_at, 38149_at, 37028_at, 225544_at, 229676_at, 215210_s_at, 203821_at, 1558378_a_at, 226034_at, 240991_at, 205015_s_at, 229872_s_at, 227510_x_at, 238063_at, 223309_x_at, 209598_at, 207945_s_at, 222881_at, 210638_s_at, 235263_at, 206156_at, 228846_at, 221489_s_at, 221009_s_at, 220658_s_at, 205032_at, 201044_x_at, 215977_x_at, 204014_at, 205895_s_at, 231735_s_at, 205014_at, 220949_s_at, 226275_at, 215101_s_at, 208613_s_at, 201631_s_at, 211467_s_at, 218796_at, 228046_at, 200756_x_at, 218736_s_at, 209193_at, 230779_at, 1553722_s_at, 215071_s_at, 205290_s_at, 1552575_a_at,

【０１９３】

【表２－１２５】

標準名	メンバー記号化
TGFBETA_ALL_UP	MMP3, MARCKSL1, IGF2R, LAMB1, SPARC, FN1, ITGA4, SMO, MMP19, ITGB8, ITGA5, NID1, TIMP1, SEMA3F, RHOQ, CTNNB1, MMP2, SERPINE1, EPHB2, COL16A1, EPHA2, TNC, JUP, ITGA3, TCF7L2, COL3A1, CDH6, WNT2B, ADAM9, DSP, HSPG2, ARHGAP1, ITGB5, IGFBP5, ARHGDIA, LRP1, IGFBP2, CTNNA1, LRRC17, MMP14, NEO1, EFNA5, ITGB3, EPHB3, CD44, IGFBP4, TNFRSF1A, RAC1, PXN, PLAT, COL8A1, WNT8B, IGFBP3, RHOA, EPHB4, MMP1, PAK1, MTA1, THBS2, CSPG2, MMP17, CD59, DVL3, RHOB, COL6A3, NOTCH2, BSG, MMP11, COL1A2, ZYX, RND3, THBS1, RHOG, ICAM1, LAMA4, DVL1, PAK2, ITGB2, COL6A1, FGD1
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	SDC1, MEG3, PTG52, LRRC8C, SAMD8, GLTP, PRSS1, HPSE, PLXNA2, ZNF608, PPIF, SERPINB3, TUBA1, P18SRP, TTC8, TNFRSF10A, CSNK1E, SEMA4C, KIAA0528, DNAJC6, PRNP, SKP2, SLC9A1, OXSR1, B3GNT5, ATP2B1, LPAAT-THETA, GJB3, PTPRE, SLC25A37, CDCP1, CD55, SERPINB2, NT5E, ARHGAP25, PPP1R15A, TBX3, PAPD1, DLST /// DLSTP, HBEGF, C14ORF78, NDRG1, TGFA, LOC440667 /// LOC440, PRO1073, TMEM154, PNPLA8, PNMA2, CSNK1D, FBXO9, DKFZP434A0131, GJB5, MXD1, SPRY4 /// LOC653170, ANGPTL4, ARNTL2, ITGA2, DUSP1, GK, DUSP4, NOLC1, FGFBP1, C7ORF49, CXCL5, FLNB, IER3, NFIB, C20ORF42, LOC152485, CALU, PALMD, PIM1, TNRC6B, RNF152, HIST1H2AC, BMP2, C6ORF141, CXCL3, CCL20, ABCA1, IL8, RAPH1, DLL1, FAM83A, SOCS1, PVR, SDC4, UAP1, EPHA2, CYP27B1, SLC2A3, EHD1, KLF6, VEGF, DUSP6, SERPINB1, C16ORF74, BCL6, ZNF192, PIK3CD, TNRC6A, TRIB1, IL1A, MLL3, G0S2, GTPBP2, PLAUR, ZNF273, ANKRD38, LYN, RPRC1, TGFB2, EGR1, PHLDA1, TFPI2, DUSP5, EPAS1, SLC6A15, RNU3IP2, CASP1, CHST11, PNLIPRP3, MALL, DDX17, LATS1, INPP1, FAM46B, PI3, CASP2, ITPR3, LRAT, SH2D5, LAMA3, FN1, RUNX1, LDLR, IER2,

【０１９４】

【表２－１２６】

標準名	PMID	著者
TGFBETA_ALL_UP	11279127	Verrecchia F, Chu ML, Mauviel A
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE	16273092	Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR.

【０１９５】

【表２－１２７】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)					

【０１９６】

【表２－１２８】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)			

【０１９７】

【表２－１２９】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)			

【０１９８】

【表２－１３０】

標準名	完全な説明
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	

【０１９９】

【表２－１３１】

標準名	メンバー
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	207850_at, 205476_at, 203504_s_at, 211506_s_at, 225188_at, 204748_at, 224215_s_at, 238741_at, 210001_s_at, 214443_at, 212930_at, 202071_at, 209340_at, 230778_at, 203499_at, 205676_at, 202499_s_at, 209039_x_at, 208614_s_at, 224606_at, 210513_s_at, 208891_at, 212268_at, 242509_at, 203140_at, 206579_at, 203879_at, 234734_s_at, 202241_at, 210118_s_at, 1557158_s_at, 213524_s_at, 221050_s_at, 211924_s_at, 215239_x_at, 229125_at, 202626_s_at, 230820_at, 217943_s_at, 209908_s_at, 201694_s_at, 217997_at, 209278_s_at, 204882_at, 209457_at, 201925_s_at, 230711_at, 206376_at, 213572_s_at, 204133_at, 206011_at, 226372_at, 1558846_at, 209373_at, 204015_s_at, 208151_x_at, 1570425_s_at, 208719_s_at, 202794_at, 229518_at, 244025_at, 205016_at, 203691_at, 226032_at, 201189_s_at, 220317_at, 230973_at, 228726_at, 234608_at, 214701_s_at, 211181_x_at, 202067_s_at, 229949_at, 202081_at, 219563_at, 212408_at, 204855_at, 223195_s_at, 204679_at, 205289_at, 1556773_at, 234725_s_at, 209124_at, 205266_at, 241495_at, 200797_s_at, 212096_s_at, 212171_x_at, 208002_s_at, 214866_at, 38037_at, 223333_s_at, 202828_s_at, 213358_at, 210512_s_at, 235390_at, 210732_s_at, 225316_at, 208785_s_at, 1566968_at, 230603_at, 1553581_s_at, 1554835_a_at, 217173_s_at, 39402_at, 208893_s_at, 226808_at, 219235_s_at, 201531_at, 227180_at, 201188_s_at, 204420_at, 220407_s_at, 203263_s_at, 201861_s_at, 202711_at, 202859_x_at, 230323_s_at, 208960_s_at, 216867_s_at, 41386_i_at, 211756_at, 209427_at, 1560017_at, 216236_s_at, 209774_x_at, 201666_at, 231067_s_at, 204470_at, 227755_at, 201287_s_at, 205490_x_at, 203234_at, 218368_s_at, 228834_at, 201473_at, 203939_at, 208553_at, 202436_s_at, 223834_at, 204823_at, 203946_s_at, 212983_at, 203417_at, 226863_at, 207243_s_at, 227458_at, 208961_s_at, 219935_at, 211620_x_at, 241464_s_at, 1555167_s_at, 204457_s_at, 221773_at, 212658_at, 205180_s_at,

【０２００】

【表２－１３２】

標準名	メンバー記号化
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	C14ORF139, TOR1AIP1, SERPINB5, SESN2, KCNK1, PTHLH, SEMA4B, MYD88, LIF, CCNL1, MCL1, MTUS1, ACOT7, MMP14, KIAA0802, LGALS8, MFSD2, MAP1LC3B, SPRY4, COL27A1, IL1B, LOC643641, PHACTR4, ZFP36, ELOVL7, FOSL1, ARHGEF9, LRRFIP1, EFNB1, TMEM45B, PDGFA, JMJD3, SMTN, TMTC3, CXCL2, TIMP1, AKAP12, CXCL1, UPP1, TNFRSF12A, TOB1, JUNB, HIST1H1E, CYP1B1, CD274, NAV3, ARG2, HRAS, MFAP2, FAM110C, CALM2, ADAMTS5, FLJ27365, PBEF1, GAS1, ELK3, LHFPL2, ADAM8, SAT1, S100A6, EDG4, HOXC6, NFKBIZ, FGFR2, RBMS3, GRHL2, PHLDA2, ARHGAP27, MBOAT2, MRGPRX3, FLJ43663, CYP2R1, CCNA1, EREG, TCF7L2, C19ORF10, DENND2C, SLC16A3, PIAS1, GLCCI1, TOP1, FOS, TPM1, HK2, PPBP, HMGN3, KIAA1718, MBNL2, IRX2, EPHA4, COL12A1, FLRT3, NR6A1, LOC203274, SLC20A1, KLF5, LOC641799 /// LOC641, LRIG3, GDF15, STX1A, IL13RA2, TIA1, TRIM22, TNFRSF10B, SFN, XIST, LRP8, MID1, SRRM2, TNS4, IL11, MED25, ODC1, MDH1, ZBED2, KIAA1754, ST5, ULBP2, ADRB2, PTX3, DKK3, CLCF1, KCNN4, EFNA5, VANGL2, HNRPH1, TSC22D1, FOXQ1

【０２０１】

【表２－１３３】

標準名	PMID	著者
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)		

【０２０２】

【表２－１３４】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)					

【０２０３】

【表２－１３５】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)			

【０２０４】

【表２－１３６】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)			

【０２０５】

【表２－１３７】

標準名	完全な説明
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	

【０２０６】

【表２－１３８】

標準名	メンバー
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	230333_at, 201489_at, 208892_s_at, 228923_at, 206722_s_at, 206858_s_at, 229545_at, 223217_s_at, 219267_at, 203639_s_at, 225756_at, 240245_at, 219388_at, 209803_s_at, 227057_at, 226726_at, 1553293_at, 239331_at, 227109_at, 205899_at, 225189_s_at, 205767_at, 201926_s_at, 216035_x_at, 216483_s_at, 200632_s_at, 230769_at, 231775_at, 227288_at, 202856_s_at, 160020_at, 211182_x_at, 217864_s_at, 225706_at, 208901_s_at, 209189_at, 238688_at, 202934_at, 211527_x_at, 214146_s_at, 205067_at, 209377_s_at, 217996_at, 227404_s_at, 221778_at, 232138_at, 228462_at, 227449_at, 234951_s_at, 219250_s_at, 60474_at, 232478_at, 207390_s_at, 217279_x_at, 232034_at, 205179_s_at, 201920_at, 209212_s_at, 215667_x_at, 226908_at, 204678_s_at, 221577_x_at, 204729_s_at, 223196_s_at, 206172_at, 201447_at, 213293_s_at, 210405_x_at, 209260_at, 243712_at, 225611_at, 202014_at, 232158_x_at, 208433_s_at, 203636_at, 1554671_a_at, 222265_at, 206924_at, 1553993_s_at, 219039_at, 200790_at, 235374_at, 219836_at, 210845_s_at, 225582_at, 202440_s_at, 202068_s_at, 221291_at, 242899_at, 206170_at, 214845_s_at, 206157_at, 228314_at, 236656_s_at, 232947_at, 218000_s_at, 202435_s_at, 219500_at, 227364_at, 204401_at, 210355_at, 201041_s_at, 1559360_at, 226029_at, 213472_at, 208786_s_at, 215111_s_at, 227475_at

【０２０７】

【表２－１３９】

標準名	メンバー記号化
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)	

【０２０８】

【表２－１４０】

標準名	PMID	著者
RAS_ONCOGENIC_SIGNATURE(続き)		

【０２０９】

【表２－１４１】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1790	ヒト
SCHUMACHER_MYC_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:762	ヒト

【０２１０】

【表２－１４２】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE		HG_U133_Plus_2	c2
SCHUMACHER_MYC_UP		Hu6800	c2

【０２１１】

【表２－１４３】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	Arthur Liberzon	Broad Institute	c-Src癌遺伝子を発現する細胞を、GFPを発現する対照細胞から識別するために、教師あり分析で選択された遺伝子。
SCHUMACHER_MYC_UP	Yujin Hoshida	Broad Institute	P493-6(B細胞)中でMYCによってアップレギュレートされる遺伝子

【０２１２】

【表２－１４４】

標準名	完全な説明
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	著者らは、一次乳腺上皮細胞培養物(HMEC)を用いて一連の経路サインを開発した。著者らは、組換えアデノウイルスを用いて、そうでなければ休止状態の細胞においてヒトc-Srcの発現を強制し、それにより、この単一の経路の活性化/調節解除によって定義される続く事象を特異的に単離した。複数の独立した感染からのRNAを、Affymetrix HG_U133_Plus_2アレイを用いてDNAマイクロアレイ分析用に収集した。SRC誘導性の経路の活性を反映する遺伝子発現サインは、[PMID:11562467]に記載の教師あり分類方法を用いて同定した。分析により、発現レベルと、HMEC試料のc-Src活性化/調節解除対対照(緑色蛍光タンパク質の強制発現)への分類とが最も高く相関している一組の遺伝子が選択される。
SCHUMACHER_MYC_UP	AB-癌原遺伝子c-myc(myc)は、成長、増殖およびアポトーシスを促進する転写因子(Myc)をコードしている。Mycは、下流の遺伝子を誘導/抑制することによってこれらの効果を誘導することが示唆されている。ここでは、本発明者らは、条件的myc発現に応じて成長および増殖するヒトB細胞系中の潜在的なMyc標的遺伝子の同定を報告する。オリゴヌクレオチドマイクロアレイを適用して、Mycの下流の遺伝子を細胞質mRNAのレベルで同定した。さらに、本発明者らは、その転写速度を変化させることによって、核ランオン実験において潜在的なMyc標的遺伝子を同定した。同定された遺伝子は、その産物がアミノ酸/タンパク質の合成、脂質代謝、タンパク質の回転/折り畳み、ヌクレオチド/DNAの合成輸送、核小体機能/RNA結合、転写およびスプライシング、酸化的ストレスならびにシグナル伝達に関与する遺伝子クラスに属する。同定された標的は、mycが成長の制御の主要な遺伝子として作用し、多種多様の遺伝子の転写を増加させるという、本発明者らの現在の見解を支持している。

【０２１３】

【表２－１４５】

標準名	メンバー
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	206414_s_at, 242082_at, 229101_at, 218796_at, 213350_at, 202506_at, 213069_at, 230304_at, 213485_s_at, 229582_at, 1552797_s_at, 227921_at, 212044_s_at, 213865_at, 202245_at, 224321_at, 203301_s_at, 224250_s_at, 202569_s_at, 212560_at, 241617_x_at, 211756_at, 1556006_s_at, 1556499_s_at, 212492_s_at, 209537_at, 221900_at, 1568680_s_at, 222667_s_at, 204614_at, 37028_at, 225640_at, 225461_at, 218397_at, 206011_at, 201447_at, 229666_s_at, 201128_s_at, 213279_at, 228955_at, 204847_at, 206591_at, 1568408_x_at, 212435_at, 212928_at, 1554021_a_at, 219181_at, 201879_at, 200908_s_at, 209773_s_at, 1558211_s_at, 220687_at, 31874_at, 204404_at, 231866_at, 235423_at, 1556773_at, 213262_at, 219571_s_at, 238933_at, 202648_at, 202643_s_at, 213352_at, 226065_at, 221284_s_at, 213243_at, 206976_s_at, 213056_at, 215867_x_at, 235392_at, 213164_at, 236251_at, 201737_s_at
SCHUMACHER_MYC_UP	UCK2, MEST, NME1, SLC16A1, JTV1, LRP8, MAC30, LOC56902, SORD, POLD2, ACSL1, PRDX4, LDHA, ZNF239, BOP1, RRS1, KIAA0020, DHODH, FABP5, RANBP1, SLC39A14, CYP51A1, NOLC1, FXN, TFRC, AKAP1, NEFH, PRPS2, POLR2H, AEBP1, UCHL3, SLC20A1, CTPS, AHCY, TARBP1, FKBP4, IARS, MTHFD1, DDX10, ATP1B3, CTSC, HSPE1, AUH, SLC39A6, VRK1, MRPL3, EBNA1BP2, PAICS, RABEPK, PBEF1, PYCR1, ABCE1, GRSF1, DDX21

【０２１４】

【表２－１４６】

標準名	メンバー記号化
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	DDEF2, MMAB, LOC150166, C20ORF42, RPS11, SSFA2, HEG1, ABCC10, C18ORF37, PROM2, RPL27A, DCBLD2, LSS, TMEFF2, DMTF1, SECISBP2, MARK3, C11ORF32, PTHLH, CSNK1A1, COL1A1, JMJD2B, EXTL2, COL8A2, YTHDC2, ASH1L, SERPINB2, PPP1R15A, LOC401504, EHMT1, FANCL, CASP1, TIA1, CSTF3, ACLY, DHRS1, ZBTB11, RAG1, TRIM33, TSPYL4, ZNF12, LIPG, ARIH1, RPLP2, RRM2, SRC, GAS2L1, SLC12A2, LNPEP, SACS, RPS19, TNFAIP3, TMCC1, PRICKLE1, VPS13B, HSPH1, FRMD4B, CA12, IRS1, SLC5A3, ITGAV, MARCH6
SCHUMACHER_MYC_UP	UCK2, MEST, NME1, SLC16A1, JTV1, LRP8, MAC30, LOC56902, SORD, POLD2, ACSL1, PRDX4, LDHA, ZNF239, BOP1, RRS1, KIAA0020, DHODH, FABP5, RANBP1, SLC39A14, CYP51A1, NOLC1, FXN, TFRC, AKAP1, NEFH, PRPS2, POLR2H, AEBP1, UCHL3, SLC20A1, CTPS, AHCY, TARBP1, FKBP4, IARS, MTHFD1, DDX10, ATP1B3, CTSC, HSPE1, AUH, SLC39A6, VRK1, MRPL3, EBNA1BP2, PAICS, RABEPK, PBEF1, PYCR1, ABCE1, GRSF1, DDX21

【０２１５】

【表２－１４７】

標準名	PMID	著者
SRC_ONCOGENIC_SIGNATURE	16273092	Bild AH, Yao G, Chang JT, Wang Q, Potti A, Chasse D, Joshi MB, Harpole D, Lancaster JM, Berchuck A, Olson JA Jr, Marks JR, Dressman HK, West M, Nevins JR.
SCHUMACHER_MYC_UP	11139609	Schuhmacher M, Kohlhuber F, Holzel M, Kaiser C, Burtscher H, Jarsch M, Bornkamm GW, Laux G, Polack A, Weidle UH, Eick D

【０２１６】

【表２－１４８】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
IGF1_NIH3T3_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1522	マウス
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1640	ヒト

【０２１７】

【表２－１４９】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
IGF1_NIH3T3_UP		GENE_SYMBOL	c2
SERUM_FIBROBLAST_CELL CYCLE		GENE_SYMBOL	c2

【０２１８】

【表２－１５０】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
IGF1_NIH3T3_UP	L2L John Newman	Washington University	IGF1Rを過剰発現するNIH3T3細胞のIGF1を用いた処理によってアップレギュレート(表1+3)
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	L2L John Newman	Washington University	様々なヒト線維芽細胞系中で血清に曝された後に調節される、細胞周期依存性の遺伝子

【０２１９】

【表２－１５１】

標準名	完全な説明
IGF1_NIH3T3_UP	AB-IGF-1受容体および関連するインスリン受容体は構造が類似しており、多くの同じ受容体後シグナル伝達経路を活性化させるが、これらは明白に異なる生物学的機能を媒介する。インスリン対IGF-1のシグナル伝達の特異性がどのように制御されるかは、依然として知られていない。本研究では、本発明者らは、cDNAマイクロアレイを用いて、インスリンおよびIGF-1によって調節される遺伝子発現パターンを監視した。野生型ヒトIGF受容体またはインスリン受容体のどちらかを発現するマウス線維芽細胞NIH-3T3細胞を、それぞれIGF-1またはインスリンのどちらかで刺激した。30個の遺伝子(そのうち27個はIGF-1応答性であると以前に知られていなかった)がIGF-1によってアップレギュレートされたが、インスリンによってはされなかった。9個の遺伝子(そのうちのどれもインスリン応答性であると以前に知られていなかった)がインスリンによってアップレギュレートされたが、IGF-1によってはされなかった。これらの遺伝子のうちの10個の、IGFおよびインスリンに誘導される調節を、ノーザンブロット分析によって確認した。興味深いことに、IGF-1によってアップレギュレートされた半分を超える遺伝子が有糸分裂誘発および分化に関連している一方で、インスリンによって特異的にアップレギュレートされた遺伝子は、どれもこれらのプロセスに関連していなかった。本発明者らの結果は、本研究で使用した条件下では、マウス線維芽細胞NIH-3T3細胞においてIGF-1がインスリンよりも強力な分裂促進経路の活性化剤であることを示している。
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	AB-癌の侵襲および転移は、創傷治癒の不成功に関連づけられている。癌の進行と創傷治癒との間の細胞の挙動の類似点にもかかわらず、これら2つのプロセスとその予後との間の分子的関係性は不明確である。本研究では、10個の解剖学的部位からの線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルに基づいて、本発明者らは創傷治癒における線維芽細胞の多面的な役割を反映していると考えられる血清曝露に応答した、常同的な遺伝子発現プログラムを同定する。この線維芽細胞共通血清応答を含む遺伝子は、多くのヒト腫瘍において協調的に調節されており、これにより、本発明者らが活動的な創傷を示唆する遺伝子発現サインを有する腫瘍を同定することが可能となる。線維芽細胞血清応答プログラムにおいて誘導された遺伝子は、腫瘍中で、腫瘍細胞自体によって、腫瘍関連線維芽細胞によって、または両方によって発現される。この創傷様の表現型を定義する分子的特長は、初期の臨床段階で明らかであり、処置中に持続し、乳癌、肺癌および胃癌において転移および死亡の危険性の増加を予測する。したがって、血清に対する線維芽細胞の応答の転写サインは、癌の進行と創傷治癒との間の可能性のある連結、およびいくつかの一般的な癌腫における臨床過程の強力な予測材料を提供する。

【０２２０】

【表２－１５２】

標準名	メンバー
IGF1_NIH3T3_UP	CYR61, GPD2, CSDA, SMAD5, PVALB, H3F3B, TWIST1, TNFRSF1A, IER3, SLC25A5, SOX2, ETF1, MYH3, WEE1, IL3RA, CSF1, SLC20A1, RBM13, ITGA5, PHLDA1, NFE2L2, IL4R, KIF1A, NAB2, GDNF, TUBB2B, FOXC2, ZFP90, MGP, VHL, SFRS2, NT5E, DAXX, TAGLN, SFRS3, LOC653441
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	UBE2T, CDKL5, SPAG5, CKS1B, FEN1, RECQL4, PRIM2A, CDCA8, AMD1, MPHOSPH1, CCNB2, ILF2, MCM5, CASP3, KIAA1333, AURKA, YWHAH, TIMP1, TOP2A, MCM8, MCM6, TACC3, TYMS, H2AFX, CENPQ, TRIP13, CDC6, TUBB2C, CKAP2, NCAPH, FBXL20, FAM83D, MCM4, RRM1, LMNB1, KIAA1794, GMNN, WDR51A, KIF23, ABCC5, H2-ALPHA, DHFR, PLK1, CKAP2L, ITGB3, CENPA, EXO1, EZH2, PRIM1, CIITA, PBK, TUBA1, CENPF, MLF1IP, BUB1, UHRF1, RAD51AP1, CCNA2, GINS3, ASF1B, FAM111B, HIST1H2AC, CDCA1, PSRC1, CDC2, KIAA1370, MELK, PTTG1, RFC4, NCAPD3, SMC4, HMMR, WSB1, GTSE1, LYAR, SCML1, ANKRD10, CKS2, FOXM1, MAD2L1, NALP2, USP1, MET, PPIH, DONSON, CDCA5, DLG7, KIFC1, ESCO2, CDCA7, MLLT6, CDKN3, DEPDC1B, MAPK13, HELLS, GINS2, SDC1, CDC25A, C13ORF3, ANP32E, RRM2, C7ORF41, ANLN, MBOAT1, KIAA0101, CTNNA1, FAM64A, ATAD2, SGCD, FANCA, TIPIN, PWP1, RFC2, TPX2, CCDC99, CDC25C, LOC441052, PHTF2, EFHC1, FANCG, TNCRNA, PAQR4, HN1, RANGAP1, CCNF, PCNA, TUBB, RP11-11C5.2, DKFZP762E1312, MND1, FLJ25416, UBE2C, BARD1, CENPM, KNTC1, ADAMTS1, FAM72A, GAS2L3

【０２２１】

【表２－１５３】

標準名	メンバー記号化
IGF1_NIH3T3_UP	CYR61, GPD2, CSDA, SMAD5, PVALB, H3F3B, TWIST1, TNFRSF1A, IER3, SLC25A5, SOX2, ETF1, MYH3, WEE1, IL3RA, CSF1, SLC20A1, RBM13, ITGA5, PHLDA1, NFE2L2, IL4R, KLF1A, NAB2, GDNF, TUBB2B, FOXC2, ZFP90, MGP, VHL, SFRS2, NT5E, DAXX, TAGLN, SFRS3, LOC653441
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	UBE2T, CDKL5, SPAG5, CKS1B, FEN1, RECQL4, PRIM2A, CDCA8, AMD1, MPHOSPH1, CCNB2, ILF2, MCM5, CASP3, KIAA1333, AURKA, YWHAH, TIMP1, TOP2A, MCM8, MCM6, TACC3, TYMS, H2AFX, CENPQ, TRIP13, CDC6, TUBB2C, CKAP2, NCAPH, FBXL20, FAM83D, MCM4, RRM1, LMNB1, KIAA1794, GMNN, WDR51A, KIF23, ABCC5, H2-ALPHA, DHFR, PLK1, CKAP2L, ITGB3, CENPA, EXO1, EZH2, PRIM1, CIITA, PBK, TUBA1, CENPF, MLF1IP, BUB1, UHRF1, RAD51AP1, CCNA2, GINS3, ASF1B, FAM111B, HIST1H2AC, CDCA1, PSRC1, CDC2, KIAA1370, MELK, PTTG1, RFC4, NCAPD3, SMC4, HMMR, WSB1, GTSE1, LYAR, SCML1, ANKRD10, CKS2, FOXM1, MAD2L1, NALP2, USP1, MET, PPIH, DONSON, CDCA5, DLG7, KIFC1, ESCO2, CDCA7, MLLT6, CDKN3, DEPDC1B, MAPK13, HELLS, GINS2, SDC1, CDC25A, C13ORF3, ANP32E, RRM2, C7ORF41, ANLN, MBOAT1, KIAA0101, CTNNA1, FAM64A, ATAD2, SGCD, FANCA, TIPIN, PWP1, RFC2, TPX2, CCDC99, CDC25C, LOC441052, PHTF2, EFHC1, FANCG, TNCRNA, PAQR4, HN1, RANGAP1, CCNF, PCNA, TUBB, RP11-11C5.2, DKFZP762E1312, MND1, FLJ25416, UBE2C, BARD1, CENPM, KNTC1, ADAMTS1, FAM72A, GAS2L3

【０２２２】

【表２－１５４】

標準名	PMID	著者
IGF1_NIH3T3_UP	11606465	Dupont J, Khan J, Qu BH, Metzler P, Helman L, LeRoith D
SERUM_FIBROBLAST_CELLCYCLE	14737219	Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO

【０２２３】

【表２－１５５】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1642	ヒト

【０２２４】

【表２－１５６】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP		GENE_SYMBOL	c2

【０２２５】

【表２－１５７】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	L2L John Newman	Washington University	様々なヒト線維芽細胞系中で血清に曝された後に一貫してアップレギュレートされる、核となる遺伝子の群(活性細胞中でより高い発現、細胞周期依存性ではない)

【０２２６】

【表２－１５８】

標準名	完全な説明
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	AB-癌の侵襲および転移は、創傷治癒の不成功に関連づけられている。癌の進行と創傷治癒との間の細胞の挙動の類似点にもかかわらず、これら2つのプロセスとその予後との間の分子的関係性は不明確である。本研究では、10個の解剖学的部位からの線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルに基づいて、本発明者らは創傷治癒における線維芽細胞の多面的な役割を反映していると考えられる血清曝露に応答した、常同的な遺伝子発現プログラムを同定する。この線維芽細胞共通血清応答を含む遺伝子は、多くのヒト腫瘍において協調的に調節されており、これにより、本発明者らが活動的な創傷を示唆する遺伝子発現サインを有する腫瘍を同定することが可能となる。線維芽細胞血清応答プログラムにおいて誘導された遺伝子は、腫瘍中で、腫瘍細胞自体によって、腫瘍関連線維芽細胞によって、または両方によって発現される。この創傷様の表現型を定義する分子的特長は、初期の臨床段階で明らかであり、処置中に持続し、乳癌、肺癌および胃癌において転移および死亡の危険性の増加を予測する。したがって、血清に対する線維芽細胞の応答の転写サインは、癌の進行と創傷治癒との間の可能性のある連結、およびいくつかの一般的な癌腫における臨床過程の強力な予測材料を提供する。

【０２２７】

【表２－１５９】

標準名	メンバー
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	SPFH1, UCK2, FARSLB, CENPJ, VIL2, C8ORF13, ACTC1, MAP3K8, ACTL6A, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, ITGA6, SNRPC, CDK2, RANBP1, GGH, SNRPB, C6ORF173, DBNDD1, C6ORF55, LSM3, PSMD12, DHFR, BRIP1, CORO1C, DTYMK, FARSLA, FLNC, UBE2J1, SPAG17, LPAL2, DUT, PSMC3, NUP35, STX3, DCBLD2, IL7R, WDR77, H2AFZ, SLC25A40, PLOD2, EIF4G1, TIMM50, RPN1, NUDT15, SFRS2, MSN, C3ORF26, SNRPE, NCLN, STK17A, KIAA0090, NUDT1, WDHD1, PITPNC1, SNRPD1, TDP1, UAP1, FCRLA, MRPS16, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, POLE2, HSPC111, RAB3B, SDC1, PTS, CDCA4, TPRKB, HNRPA3, POLE3, PHF19, WDR54, SNRPA1, TPM2, DDX11, EPHB1, NOLA2, NUPL1, ANKRD32, PDIA4, FLJ10292, LRRC40, PLAUR, SLC25A5, NUP85, COQ2, SSR3, PNN, HMGN2, RFC3, BRCA2, SAR1B, GNG11, TXNL2, RPP40, NDRG1, C11ORF24, MKKS, STRA13, RBMX, RNF41, HNRPR, EBNA1BP2, DCLRE1B, DNAJC9, GPLD1, PGM2, PSMA7, HYLS1, HAS2, TMEM48, PSMD14, LYPLA2, SMC2, JTV1, F3, DYNLT1, TMEM130, RNASEH2A, NPTN, MT3, C1ORF41, DLEU1, DLEU2, ID3, PFKP, CENPN, CEP78, HNRPAB, SMS, DCK, ID2, ST3GAL6, IPO4, RUVBL2, CLCF1, NUP93, TNFRSF12A, MGC42105, PSMD2, PCSK7, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, ALKBH7, MNAT1, MCM7, CCDC5, MLF1IP, C13ORF1, COPB2, MCTS1, IFRD2, UCRC, SH3BP5L, SFRS10, TFPI2, LYAR, C16ORF61, RNF138, GSTCD, MRPL37, FAM33A, EMP2, CRSP8, MYBL2, PPIH, RGS13, CCT5, C19ORF48, WSB2, TOMM40, PFN1, PAX9, PDLIM7, PTPLB, C12ORF24, FABP5, HMGB1, MT1F, EXOSC8, CSMD1, SMURF2, POLR3K, KRR1, LMNB2, C1ORF33, C18ORF24, MCM3, RUVBL1, UMPS, MAPRE1, LCTL, C16ORF34, NRIP3, NUP107, CCND3, AADACL1

【０２２８】

【表２－１６０】

標準名	メンバー記号化
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	SPFH1, UCK2, FARSLB, CENPJ, VIL2, C8ORF13, ACTC1, MAP3K8, ACTL6A, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, ITGA6, SNRPC, CDK2, RANBP1, GGH, SNRPB, C6ORF173, DBNDD1, C6ORF55, LSM3, PSMD12, DHFR, BRIP1, CORO1C, DTYMK, FARSLA, FLNC, UBE2J1, SPAG17, LPAL2, DUT, PSMC3, NUP35, STX3, DCBLD2, IL7R, WDR77, H2AFZ, SLC25A40, PLOD2, EIF4G1, TIMM50, RPN1, NUDT15, SFRS2, MSN, C3ORF26, SNRPE, NCLN, STK17A, KIAA0090, NUDT1, WDHD1, PITPNC1, SNRPD1, TDP1, UAP1, FCRLA, MRPS16, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, POLE2, HSPC111, RAB3B, SDC1, PTS, CDCA4, TPRKB, HNRPA3, POLE3, PHF19, WDR54, SNRPA1, TPM2, DDX11, EPHB1, NOLA2, NUPL1, ANKRD32, PDIA4, FLJ10292, LRRC40, PLAUR, SLC25A5, NUP85, COQ2, SSR3, PNN, HMGN2, RFC3, BRCA2, SAR1B, GNG11, TXNL2, RPP40, NDRG1, C11ORF24, MKKS, STRA13, RBMX, RNF41, HNRPR, EBNA1BP2, DCLRE1B, DNAJC9, GPLD1, PGM2, PSMA7, HYLS1, HAS2, TMEM48, PSMD14, LYPLA2, SMC2, JTV1, F3, DYNLT1, TMEM130, RNASEH2A, NPTN, MT3, C1ORF41, DLEU1, DLEU2, ID3, PFKP, CENPN, CEP78, HNRPAB, SMS, DCK, ID2, ST3GAL6, IPO4, RUVBL2, CLCF1, NUP93, TNFRSF12A, MGC42105, PSMD2, PCSK7, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, ALKBH7, MNAT1, MCM7, CCDC5, MLF1IP, C13ORF1, COPB2, MCTS1, IFRD2, UCRC, SH3BP5L, SFRS10, TFPI2, LYAR, C16ORF61, RNF138, GSTCD, MRPL37, FAM33A, EMP2, CRSP8, MYBL2, PPIH, RGS13, CCT5, C19ORF48, WSB2, TOMM40, PFN1, PAX9, PDLIM7, PTPLB, C12ORF24, FABP5, HMGB1, MT1F, EXOSC8, CSMD1, SMURF2, POLR3K, KRR1, LMNB2, C1ORF33, C18ORF24, MCM3, RUVBL1, UMPS, MAPRE1, LCTL, C16ORF34, NRIP3, NUP107, CCND3, AADACL1

【０２２９】

【表２－１６１】

標準名	PMID	著者
SERUM_FIBROBLAST_CORE_UP	14737219	Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO

【０２３０】

【表２－１６２】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:823	ヒト
OLDAGE_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1583	ヒト

【０２３１】

【表２－１６３】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP		GENE_SYMBOL	c2
OLDAGE_DN		GENE_SYMBOL	c2

【０２３２】

【表２－１６４】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	Jean Junior	Broad Institute	活性遺伝子のCSR(血清応答)サイン(Stanford)
OLDAGE_DN	L2L John Newman	Washington University	若齢と比較して高齢の個体からの線維芽細胞でダウンレギュレート

【０２３３】

【表２－１６５】

標準名	完全な説明
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	AB-癌の侵襲および転移は、創傷治癒の不成功に関連づけられている。癌の進行と創傷治癒との間の細胞の挙動の類似点にもかかわらず、これら2つのプロセスとその予後との間の分子的関係性は不明確である。本研究では、10個の解剖学的部位からの線維芽細胞の遺伝子発現プロファイルに基づいて、本発明者らは創傷治癒における線維芽細胞の多面的な役割を反映していると考えられる血清曝露に応答した、常同的な遺伝子発現プログラムを同定する。この線維芽細胞共通血清応答を含む遺伝子は、多くのヒト腫瘍において協調的に調節されており、これにより、本発明者らが活動的な創傷を示唆する遺伝子発現サインを有する腫瘍を同定することが可能となる。線維芽細胞血清応答プログラムにおいて誘導された遺伝子は、腫瘍中で、腫瘍細胞自体によって、腫瘍関連線維芽細胞によって、または両方によって発現される。この創傷様の表現型を定義する分子的特長は、初期の臨床段階で明らかであり、処置中に持続し、乳癌、肺癌および胃癌において転移および死亡の危険性の増加を予測する。したがって、血清に対する線維芽細胞の応答の転写サインは、癌の進行と創傷治癒との間の可能性のある連結、およびいくつかの一般的な癌腫における臨床過程の強力な予測材料を提供する。
OLDAGE_DN	AB-メッセンジャーRNAレベルを、若齢、中年および高齢のヒトならびに加速した加齢によって特徴づけられる稀な遺伝子障害である早老症に罹患したヒトから単離した、活動的に分裂中の線維芽細胞中で測定した。その発現が加齢関連の表現型および疾患に関連している遺伝子を同定した。また、データは、加齢プロセスの根底にある機構が、人生の生殖期後における分裂する細胞の有糸分裂機構の誤りの増加に関与していることも示唆している。本発明者らは、この機能不全が、加齢プロセスに関与する遺伝子の誤調節を生じさせる染色体の病理をもたらすことを提案している。

【０２３４】

【表２－１６６】

標準名	メンバー
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	UMPK, ENIGMA, SDFR1, CENPJ, VIL2, MAP3K8, MGC3101, CBX1, EIF4EBP1, CHEK1, KIAA0095, ITGA6, HSU79274, SNRPC, MGC10200, CDK2, STK18, SNRPB, GGH, LSM3, PSMD12, PDAP1, FLJ10036, MGC11266, FARSL, MCT-1, DHFR, KIAA1363, BRIP1, CORO1C, MGC13170, FLNC, VDAC1, UBE2J1, LSM4, DUT, PSMC3, ARHC, HRI, BM039, IL7R, H2AFZ, MYL6, LOC51128, C1orf33, PLOD2, EIF4G1, RPN1, SFRS2, MSN, C6orf55, SNRPE, STK17A, NUTF2, KIAA0090, NUDT1, SSSCA1, PITPNC1, SNRPD1, LOC115106, LOXL2, UAP1, MGC10974, MRPS16, CGI-121, MRPS28, MET, ENO1, LOC56902, NLN, MRPL12, LOC56926, POLE2, HSPC111, FLJ10407, SDC1, COPS6, PTS, MGC14480, CDCA4, FLJ32915, SNRPA1, HN1L, TPM2, EPHB1, KEO4, NOLA2, SRM, NUPL1, FLJ10292, C13orf1, PLAUR, SLC25A5, SSR3, PNN, HMGN2, BRCA2, MYCBP, RFC3, GNG11, TXNL2, ESDN, FLJ30532, MKKS, RBMX, HNRPR, EBNA1BP2, RNF41, DCLRE1B, PAICS, TIM50L, OIP2, GPLD1, PSMA7, HAS2, DKFZp761L1417, PSMD14, NME1, C11orf14, SLC16A1, JTV1, FLJ23468, FLJ20331, PCNT1, F3, LOC129401, PA2G4, RNASEH2A, MT3, DLEU1, FLJ10983, ID3, DLEU2, PFKP, TCTEL1, CL640, EEF1E1, DCK, SMS, KIAA1720, TAGLN, ID2, IPO4, FRSB, DC13, COTL1, TNFRSF12A, PSMD2, LOC201562, PCSK7, BCCIP, C11orf24, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, MCM7, MNAT1, MEP50, IFRD2, FLJ12643, SFRS10, C8orf13, TFPI2, HRB2, LYAR, RNF138, MRPL37, RNASEP1, HNRPA2B1, EMP2, MYBL2, PPIH, COX17, ERP70, TUBG1, CCT5, BAF53A, WSB2, MYBL1, TOMM40, PFN1, RBM14, IMP4, HMGB1, MT1F, CKLF, MTH2, DKFZP727G051, TPM1, MGC4825, SMURF2, POLR3K, SMC2L1, LMNB2, MCM3, FLJ12953, RUVBL1, LOC51668, AND-1, UMPS, MAPRE1, MGC4308, PLG, TPI1, TCEB1, NUP107, ADAMTS1, LOC93081
OLDAGE_DN	HAS2, CENPA, NASP, CKS1B, PPP1CC, SAFB, FOXM1, PSMC6, APPBP1, CKAP5, CDH11, DDX39, MYBL2, PSMD11, CSE1L, KIF2C, H2AFX, CDC20, PSMC2, CTSC, HMGB2, HADH2, PTGS2, CENPF, UGCG, H2AFZ, KIF11, NUP88, CDC25B, IL8, CCNA2, RANBP1, CCNF, ATR, PSMD12, UBE2C, PSMA2, BARD1, KIF23, PARP1, PKMYT1, PSMA3, KIF14, MCM2, FBN2, POSTN, PLK1

【０２３５】

【表２－１６７】

標準名	メンバー記号化
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	HAS2, PSMD14, CENPJ, VIL2, C8ORF13, NME1, SLC16A1, JTV1, F3, MAP3K8, CBX1, EIF4EBP1, PA2G4, RNASEH2A, CHEK1, MT3, ITGA6, DLEU1, SNRPC, ID3, DLEU2, PFKP, CDK2, SNRPB, GGH, C6ORF55, LSM3, PDAP1, PSMD12, EEF1E1, SMS, DCK, DHFR, BRIP1, TAGLN, CORO1C, ID2, IPO4, FLNC, VDAC1, UBE2J1, LSM4, DUT, PSMC3, COTL1, TNFRSF12A, PSMD2, PCSK7, IL7R, BCCIP, SNRPA, TUBA1, MTHFD1, MNAT1, MCM7, H2AFZ, C13ORF1, MYL6, IFRD2, PLOD2, EIF4G1, RPN1, SFRS10, SFRS2, MSN, SNRPE, STK17A, NUTF2, KIAA0090, NUDT1, TFPI2, SSSCA1, PITPNC1, SNRPD1, LYAR, LOXL2, UAP1, RNF138, MRPS16, MRPL37, HNRPA2B1, EMP2, MRPS28, MET, ENO1, PPIH, MYBL2, LOC56902, NLN, MRPL12, COX17, CCT5, TUBG1, MYBL1, WSB2, TOMM40, PFN1, HSPC111, POLE2, RBM14, SDC1, COPS6, IMP4, HMGB1, PTS, CDCA4, MT1F, CKLF, SNRPA1, TPM2, TPM1, SMURF2, EPHB1, POLR3K, NOLA2, SRM, NUPL1, LMNB2, C1ORF33, FLJ10292, MCM3, PLAUR, RUVBL1, SLC25A5, PNN, SSR3, UMPS, HMGN2, BRCA2, MYCBP, RFC3, MAPRE1, GNG11, TXNL2, PLG, C11ORF24, MKKS, RBMX, TPI1, HNRPR, EBNA1BP2, RNF41, DCLRE1B, PAICS, TCEB1, NUP107, ADAMTS1, GPLD1, PSMA7
OLDAGE_DN	HAS2, CENPA, NASP, CKS1B, PPP1CC, SAFB, FOXM1, PSMC6, APPBP1, CKAP5, CDH11, DDX39, MYBL2, PSMD11, CSE1L, KIF2C, H2AFX, CDC20, PSMC2, CTSC, HMGB2, HADH2, PTGS2, CENPF, UGCG, H2AFZ, KIF11, NUP88, CDC25B, IL8, CCNA2, RANBP1, CCNF, ATR, PSMD12, UBE2C, PSMA2, BARD1, KIF23, PARP1, PKMYT1, PSMA3, KIF14, MCM2, FBN2, POSTN, PLK1

【０２３６】

【表２－１６８】

標準名	PMID	著者
CHANG_SERUM_RESPONSE_UP	14737219	Chang HY, Sneddon JB, Alizadeh AA, Sood R, West RB, Montgomery K, Chi, van de Rijn M, Botstein D, Brown PO
OLDAGE_DN	10741968	Ly DH, Lockhart DJ, Lerner RA, Schultz PG

【０２３７】

【表２－１６９】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
P21_P53_ANY_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1601	ヒト

【０２３８】

【表２－１７０】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
P21_P53_ANY_DN		GENE_SYMBOL	c2

【０２３９】

【表２－１７１】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
P21_P53_ANY_DN	L2L John Newman	Washington University	OvCa細胞におけるp21(CDKN1A)の異所性発現後の任意の時点(4～24時間)でダウンレギュレート、p53依存性

【０２４０】

【表２－１７２】

標準名	完全な説明
P21_P53_ANY_DN	AB-本研究では、本発明者らは、p53遺伝子(rAd-p53)またはp21(WAF1/CIP1)遺伝子(rAd-p21)のどちらかのアデノウイルスベクター媒介の形質導入を用いて、ヒト卵巣癌細胞系2774ならびに誘導細胞系2774qw1および2774qw2内でp53依存性および非依存性のp21(WAF1/CIP1)のアップレギュレーションをどちらも模倣させた。本発明者らは、rAd-p53は2774および2774qw1細胞のどちらにおいてもアポトーシスを誘導することができるが、2774qw2細胞ではできないことを観察した。驚くことに、p21(WAF1/CIP1)の過剰発現も、これら2つの細胞系内でアポトーシスを始動させた。定量的逆転写PCR分析により、rAd-p53に誘導されるアポトーシス細胞中で特異的なBAX、BCL2およびカスパーゼ3の遺伝子の示差的発現が、rAd-p21に誘導されるアポトーシス細胞中で変更されていないことが明らかとなり、これにより、p53に誘導されるアポトーシスと区別可能な経路による、p21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスが示唆される。60000個のcDNAマイクロアレイ上での、rAd-p21に感染させた2774qw1細胞の発現分析により、2.5倍の変化をカットオフとして、少なくとも1つの時点でp21(WAF1/CIP1)発現に応答して159個の遺伝子が同定された。データを、rAd-p53感染を用いた平行マイクロアレイ実験と統合することで、p53およびp21(WAF1/CIP1)の両方の下流の66個の遺伝子ならびにp53非依存性の経路でp21(WAF1/CIP1)発現に応答する93個の遺伝子の抽出が可能となった。前者の組中の遺伝子は、p53依存性およびp53非依存性の経路の両方において二重の役割を果たす可能性があり、後者の組の遺伝子は、p53非依存性のp21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスの、機構的な分子の説明を与えた。さらに、プロモーターの配列解析により、転写因子E2Fファミリーがp21(WAF1/CIP1)後の遺伝子の示差的発現を部分的に担っていることが示唆された。本研究は、p53非依存性のアポトーシスにおけるp21(WAF1/CIP1)の役割の理解に向けて重大な意味を持つ。

【０２４１】

【表２－１７３】

標準名	メンバー
P21_P53_ANY_DN	UBE2T, AURKB, NCAPG, ASPM, PRC1, TUBA3, SMC2, PARP2, HNRPA2B1, AURKA, BIRC2, DLG7, MCM6, TYMS, TUBB3, CDC25B, MCM4, KIAA1794, VEGF, MKI67, ANLN, C14ORF106, MCM2, CYR61, ATAD2, MCM3, CEP55, TRIM44, EXO1, TPX2, CCDC99, SERPINI2, ZBTB5, PBK, ZNF84, TTK, HMGB2, MCM7, TCN2, RACGAP1, BUB1, TUBB4, FAT2, CDC2, UBE2C, KNTC1, WDHD1, NCAPD3, NPM1

【０２４２】

【表２－１７４】

標準名	メンバー記号化
P21_P53_ANY_DN	UBE2T, AURKB, NCAPG, ASPM, PRC1, TUBA3, SMC2, PARP2, HNRPA2B1, AURKA, BIRC2, DLG7, MCM6, TYMS, TUBB3, CDC25B, MCM4, KIAA1794, VEGF, MKI67, ANLN, C14ORF106, MCM2, CYR61, ATAD2, MCM3, CEP55, TRIM44, EXO1, TPX2, CCDC99, SERPINI2, ZBTB5, PBK, ZNF84, TTK, HMGB2, MCM7, TCN2, RACGAP1, BUB1, TUBB4, FAT2, CDC2, UBE2C, KNTC1, WDHD1, NCAPD3, NPM1

【０２４３】

【表２－１７５】

標準名	PMID	著者
P21_P53_ANY_DN	12138103	Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Rizzi G, Musco ML, Mirza A, Liu S

【０２４４】

【表２－１７６】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
P21_P53_EARLY_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1602	ヒト

【０２４５】

【表２－１７７】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
P21_P53_EARLY_DN		GENE_SYMBOL	c2

【０２４６】

【表２－１７８】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
P21_P53_EARLY_DN	L2L John Newman	Washington University	OvCa細胞におけるp21(CDKN1A)の異所性発現後の初期の時点(4～8時間)でダウンレギュレート、p53依存性

【０２４７】

【表２－１７９】

標準名	完全な説明
P21_P53_EARLY_DN	AB-本研究では、本発明者らは、p53遺伝子(rAd-p53)またはp21(WAF1/CIP1)遺伝子(rAd-p21)のどちらかのアデノウイルスベクター媒介の形質導入を用いて、ヒト卵巣癌細胞系2774ならびに誘導細胞系2774qw1および2774qw2内でp53依存性および非依存性のp21(WAF1/CIP1)のアップレギュレーションをどちらも模倣させた。本発明者らは、rAd-p53は2774および2774qw1細胞のどちらにおいてもアポトーシスを誘導することができるが、2774qw2細胞ではできないことを観察した。驚くことに、p21(WAF1/CIP1)の過剰発現も、これら2つの細胞系内でアポトーシスを始動させた。定量的逆転写PCR分析により、rAd-p53に誘導されるアポトーシス細胞中で特異的なBAX、BCL2およびカスパーゼ3の遺伝子の示差的発現が、rAd-p21に誘導されるアポトーシス細胞中で変更されていないことが明らかとなり、これにより、p53に誘導されるアポトーシスと区別可能な経路による、p21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスが示唆される。60000個のcDNAマイクロアレイ上での、rAd-p21に感染させた2774qw1細胞の発現分析により、2.5倍の変化をカットオフとして、少なくとも1つの時点でp21(WAF1/CIP1)発現に応答して159個の遺伝子が同定された。データを、rAd-p53感染を用いた平行マイクロアレイ実験と統合することで、p53およびp21(WAF1/CIP1)の両方の下流の66個の遺伝子ならびにp53非依存性の経路でp21(WAF1/CIP1)発現に応答する93個の遺伝子の抽出が可能となった。前者の組中の遺伝子は、p53依存性およびp53非依存性の経路の両方において二重の役割を果たす可能性があり、後者の組の遺伝子は、p53非依存性のp21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスの、機構的な分子の説明を与えた。さらに、プロモーターの配列解析により、転写因子E2Fファミリーがp21(WAF1/CIP1)後の遺伝子の示差的発現を部分的に担っていることが示唆された。本研究は、p53非依存性のアポトーシスにおけるp21(WAF1/CIP1)の役割の理解に向けて重大な意味を持つ。

【０２４８】

【表２－１８０】

標準名	メンバー
P21_P53_EARLY_DN	CYR61, NCAPG, TCN2, RACGAP1, PRC1, TPX2, CDC2, UBE2C, MKI67, AURKA, BIRC2, DLG7, TTK

【０２４９】

【表２－１８１】

標準名	メンバー記号化
P21_P53_EARLY_DN	CYR61, NCAPG, TCN2, RACGAP1, PRC1, TPX2, CDC2, UBE2C, MKI67, AURKA, BIRC2, DLG7, TTK

【０２５０】

【表２－１８２】

標準名	PMID	著者
P21_P53_EARLY_DN	12138103	Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Rizzi G, Musco ML, Mirza A, Liu S

【０２５１】

【表２－１８３】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
P21_P53_MIDDLE_DN	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1604	ヒト
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:1939	ヒト

【０２５２】

【表２－１８４】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
P21_P53_MIDDLE_DN		GENE_SYMBOL	c2
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	http://www.kegg.jp/dbget-bin/show_pathway?HSA04512	GENE_SYMBOL	c2

【０２５３】

【表２－１８５】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
P21_P53_MIDDLE_DN	L2L John Newman	Washington University	OvCa細胞におけるp21(CDKN1A)の異所性発現後の中間の時点(12～16時間)でダウンレギュレート、p53依存性
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	KEGG	KEGG	ECM-受容体の相互作用に関与する遺伝子

【０２５４】

【表２－１８６】

標準名	完全な説明
P21_P53_MIDDLE_DN	AB-本研究では、本発明者らは、p53遺伝子(rAd-p53)またはp21(WAF1/CIP1)遺伝子(rAd-p21)のどちらかのアデノウイルスベクター媒介の形質導入を用いて、ヒト卵巣癌細胞系2774ならびに誘導細胞系2774qw1および2774qw2内でp53依存性および非依存性のp21(WAF1/CIP1)のアップレギュレーションをどちらも模倣させた。本発明者らは、rAd-p53は2774および2774qw1細胞のどちらにおいてもアポトーシスを誘導することができるが、2774qw2細胞ではできないことを観察した。驚くことに、p21(WAF1/CIP1)の過剰発現も、これら2つの細胞系内でアポトーシスを始動させた。定量的逆転写PCR分析により、rAd-p53に誘導されるアポトーシス細胞中で特異的なBAX、BCL2およびカスパーゼ3の遺伝子の示差的発現が、rAd-p21に誘導されるアポトーシス細胞中で変更されていないことが明らかとなり、これにより、p53に誘導されるアポトーシスと区別可能な経路による、p21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスが示唆される。60000個のcDNAマイクロアレイ上での、rAd-p21に感染させた2774qw1細胞の発現分析により、2.5倍の変化をカットオフとして、少なくとも1つの時点でp21(WAF1/CIP1)発現に応答して159個の遺伝子が同定された。データを、rAd-p53感染を用いた平行マイクロアレイ実験と統合することで、p53およびp21(WAF1/CIP1)の両方の下流の66個の遺伝子ならびにp53非依存性の経路でp21(WAF1/CIP1)発現に応答する93個の遺伝子の抽出が可能となった。前者の組中の遺伝子は、p53依存性およびp53非依存性の経路の両方において二重の役割を果たす可能性があり、後者の組の遺伝子は、p53非依存性のp21(WAF1/CIP1)に誘導されるアポトーシスの、機構的な分子の説明を与えた。さらに、プロモーターの配列解析により、転写因子E2Fファミリーがp21(WAF1/CIP1)後の遺伝子の示差的発現を部分的に担っていることが示唆された。本研究は、p53非依存性のアポトーシスにおけるp21(WAF1/CIP1)の役割の理解に向けて重大な意味を持つ。
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	

【０２５５】

【表２－１８７】

標準名	メンバー
P21_P53_MIDDLE_DN	UBE2T, AURKB, ASPM, MCM3, ATAD2, CEP55, TUBA3, SMC2, EXO1, CCDC99, PBK, ZNF84, TYMS, TUBB3, HMGB2, MCM7, BUB1, CDC25B, TUBB4, MCM4, VEGF, ANLN, KNTC1, WDHD1, NCAPD3
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	LAMC3, CHAD, COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, COL5A1, COL5A2, COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL11A1, COL11A2, COL6A6, DAG1, LAMB4, ITGA11, FNDC3A, SV2C, FN1, FNDC5, GP1BA, GP1BB, GP5, GP9, LAMA1, HMMR, HSPG2, TNC, IBSP, ITGA6, ITGA1, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGA4, ITGA5, ITGA7, ITGA9, ITGAV, ITGB1, ITGB3, ITGB4, ITGB5, ITGB6, ITGB7, ITGB8, AGRN, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, COL5A3, GP6, RELN, SDC1, SDC2, SDC4, TNN, FNDC4, SPP1, THBS1, THBS2, THBS3, THBS4, TNR, TNXB, VTN, VWF, FNDC1, ITGA10, ITGA8, CD36, CD44, CD47, SDC3, SV2B, SV2A

【０２５６】

【表２－１８８】

標準名	メンバー記号化
P21_P53_MIDDLE_DN	UBE2T, AURKB, ASPM, MCM3, ATAD2, CEP55, TUBA3, SMC2, EXO1, CCDC99, PBK, ZNF84, TYMS, TUBB3, HMGB2, MCM7, BUB1, CDC25B, TUBB4, MCM4, VEGF, ANLN, KNTC1, WDHD1, NCAPD3
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION	LAMC3, CHAD, COL1A1, COL1A2, COL2A1, COL3A1, COL4A1, COL4A2, COL4A4, COL4A6, COL5A1, COL5A2, COL6A1, COL6A2, COL6A3, COL11A1, COL11A2, COL6A6, DAG1, LAMB4, ITGA11, FNDC3A, SV2C, FN1, FNDC5, GP1BA, GP1BB, GP5, GP9, LAMA1, HMMR, HSPG2, TNC, IBSP, ITGA6, ITGA1, ITGA2, ITGA2B, ITGA3, ITGA4, ITGA5, ITGA7, ITGA9, ITGAV, ITGB1, ITGB3, ITGB4, ITGB5, ITGB6, ITGB7, ITGB8, AGRN, LAMA2, LAMA3, LAMA4, LAMA5, LAMB1, LAMB2, LAMB3, LAMC1, LAMC2, COL5A3, GP6, RELN, SDC1, SDC2, SDC4, TNN, FNDC4, SPP1, THBS1, THBS2, THBS3, THBS4, TNR, TNXB, VTN, VWF, FNDC1, ITGA10, ITGA8, CD36, CD44, CD47, SDC3, SV2B, SV2A

【０２５７】

【表２－１８９】

標準名	PMID	著者
P21_P53_MIDDLE_DN	12138103	Wu Q, Kirschmeier P, Hockenberry T, Yang TY, Brassard DL, Wang L, McClanahan T, Black S, Rizzi G, Musco ML, Mirza A, Liu S
HSA04512_ECM_RECEPTOR_INTERACTION		Kanehisa, M., Araki, M., Goto, S., Hattori, M., Hirakawa, M., Itoh, M., Katayama, T., Kawashima, S., Okuda, S., Tokimatsu, T., Yamanishi, Y.

【０２５８】

【表２－１９０】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
MENSE_HYPOXIA_UP	msigdb	V2.5	08年3月24日	c2:915	ヒト

【０２５９】

【表２－１９１】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
MENSE_HYPOXIA_UP		AFFYMETRIX	c2

【０２６０】

【表２－１９２】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
MENSE_HYPOXIA_UP	Kevin Vogelsang	Broad Institute	星細胞およびHeLa細胞のどちらにも見られる、低酸素症に誘導される遺伝子のリスト

【０２６１】

【表２－１９３】

標準名	完全な説明
MENSE_HYPOXIA_UP	AB-酸素は哺乳動物の発生および生存に不可欠である。低酸素症に応答して、脳は、遺伝子発現の変更を含めて、器官レベルならびに分子および細胞性レベルで数々の順応応答を開始させる。星細胞は脳の適切な機能において臨床的な役割を果たし、したがって、星細胞が低酸素症に応答する様式は、脳の低酸素症の結果の決定に重要な可能性が高い。ここでは、本発明者らは、マイクロアレイ遺伝子発現プロファイリングおよびデータ分析アルゴリズムを使用して、初代ヒト星細胞中で低酸素症応答性の遺伝子を同定および分析した。また、本発明者らは、星細胞中の遺伝子発現パターンを、ヒトHeLa細胞および肺動脈内皮細胞(EC)のそれとも比較した。著しいことに、星細胞では、5倍多くの遺伝子が抑制されるよりも誘導されており、一方で、HeLaおよび肺ECでは、同数またはより多くの遺伝子が誘導されるよりも抑制されていた。糖分解酵素および血管形成成長因子などの低酸素症誘導性機能をコードしているさらなる遺伝子が、HeLa細胞と比較して星細胞中で強力に誘導されていた。さらに、遺伝子オントロジーおよびコンピューターアルゴリズムにより、EGFの多くの標的遺伝子ならびにインスリンシグナル伝達経路ならびに転写調節因子Myc、JunおよびP53が星細胞において低酸素症によって変更されていたことが明らかとなった。実際、ウエスタンブロット分析により、インスリンおよびEGFの作用を媒介する2つの主要なシグナル伝達因子、AktおよびMEK1/2が、星細胞において低酸素症によって活性化されていたことが確認された。これらの結果は、ヒト星細胞における酸素調節を媒介するシグナル伝達および調節のネットワークの包括的な見解を提供する。

【０２６２】

【表２－１９４】

標準名	メンバー
MENSE_HYPOXIA_UP	228500_at, 229879_at, 227299_at, 211162_x_at, 239474_at, 226390_at, 226099_at, 215078_at, 203282_at, 212665_at, 220482_s_at, 226452_at, 201848_s_at, 202934_at, 224708_at, 207543_s_at, 219888_at, 244604_at, 235592_at, 227368_at, 201169_s_at, 223746_at, 218651_s_at, 242669_at, 1554008_at, 217739_s_at, 202140_s_at, 226348_at, 227868_at, 1556715_at, 221845_s_at, 209984_at, 214978_s_at, 59625_at, 213397_x_at, 205158_at, 203439_s_at, 218498_s_at, 202672_s_at, 227501_at, 221478_at, 213861_s_at, 1565906_at, 211974_x_at, 218507_at, 201627_s_at, 203725_at, 203574_at, 220942_x_at, 230710_at, 222646_s_at, 202014_at, 202733_at, 235850_at, 231242_at, 202912_at, 242310_at, 214073_at, 204298_s_at, 201313_at, 215446_s_at, 243659_at, 36711_at, 210426_x_at, 217047_s_at, 238482_at, 221567_at, 209122_at, 236513_at, 216236_s_at, 239159_at, 207079_s_at, 212722_s_at, 221985_at, 1553976_a_at, 212501_at, 218325_s_at, 202498_s_at, 224314_s_at, 225898_at, 227539_at, 232293_at, 202129_s_at, 214482_at, 232628_at, 241342_at, 202464_s_at, 235226_at, 45714_at, 227337_at, 242449_at, 207785_s_at, 202364_at, 202022_at, 242523_at, 242758_x_at, 221479_s_at, 1556357_s_at, 223046_at, 205141_at, 217738_at, 224602_at, 212496_s_at, 224345_x_at, 208308_s_at, 212689_s_at, 204284_at, 200737_at, 1558164_s_at, 234970_at, 203973_s_at, 221009_s_at, 1556697_at, 1555167_s_at, 221841_s_at, 210513_s_at, 206307_s_at, 203192_at, 228499_at, 226863_at, 209566_at, 202620_s_at, 235737_at, 202973_x_at, 211527_x_at, 200632_s_at, 223193_x_at, 236545_at, 221497_x_at

【０２６３】

【表２－１９５】

標準名	メンバー記号化
MENSE_HYPOXIA_UP	ATF3, FAM119B, PRPSAP1, PEX13, CDC2L6, RBPSUH, TMEM65, RNASE4, CEBPD, ABCB6, HK2, PFKFB3, MTAC2D1, SPAG4, JMJD1A, ELL2, PDK1, RORA, SOD2, GOSR2, UFM1, JMJD2C, LOC285513, LCORL, NFIL3, CTTN, MGC21644, OSMR, STARD4, HCFC1R1, PTDSR, ADM, BNIP3, ERO1L, GADD45A, ERICH1, STC2, FAM110C, FOXD1, ANG /// RNASE4, RAB40C, C3ORF28, MAFF, PLOD2, PBEF1, LOC400027, GPI, ANGPTL4, BNIP3L, WSB1, SERGEF, PGK1, KIAA2013, THAP8, RP11-529I10.4, SLC6A6, ENO2, PPP1R15A, SCD, KLF7, MXI1, LOC154761, LOX, WDR5B, CLPB, EGLN1, KLHL24, FAM13A1, VEGF, FNBP1L, WDR54, ALDOC, NOL3, P4HA1, JMJD2B, NADSYN1, BHLHB2, CCNI, CLK3, BHLHB3, TIPARP, HIG2, PBEF1 /// LOC646309, P4HA2, TSLP, DIDO1, PPP3CA, ADFP, MED6, CEBPB, INSIG1, NDRG1, SLC2A3, RIOK3, INSIG2, PPP1R3C, LOC401152, KLF4, PFKFB4, STK4, ASPH, C6ORF166, ANKRD37, LARP6, PPFIA4, GBE1, ZBTB25

【０２６４】

【表２－１９６】

標準名	PMID	著者
MENSE_HYPOXIA_UP	16507782	Mense SM, Sengupta A, Zhou M, Lan C, Bentsman G, Volsky DJ, Zhang L

【０２６５】

【表２－１９７】

標準名	名称	バージョン	構築日	システム上の名称	生物
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:112	ヒト
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	msigdb	V2.5	08年3月24日	c5:292	ヒト

【０２６６】

【表２－１９８】

標準名	詳細の外部URL	チップ	分類コード
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0008284	GENE_SYMBOL	c5
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	http://amigo.geneontology.org/cgi-bin/amigo/go.cgi?view=details&search_constraint=terms&depth=0&query=GO:0030334	GENE_SYMBOL	c5

【０２６７】

【表２－１９９】

標準名	貢献者	貢献組織	簡単な説明
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0008284によって注記される遺伝子。細胞増殖の速度または程度を活性化または増加させる任意のプロセス。
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	遺伝子オントロジー	遺伝子オントロジー	GOタームGO:0030334によって注記される遺伝子。細胞遊走の頻度、速度または程度を変調させる任意のプロセス。

【０２６８】

【表２－２００】

標準名	完全な説明
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	

【０２６９】

【表２－２０１】

標準名	メンバー
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	ADRA1D, ADRA2A, ALOX12, RHOG, BCGF1, BNC1, BTC, CAPN1, CAPNS1, CCKBR, CD86, CD47, CD81, CDC25B, CDK2, CHRM1, CHRNA7, CSF1, CSF3, CTF1, DDX11, DHPS, EDG3, EDN1, EGR4, PTK2B, FGF4, FGF7, FIGF, FLT1, FLT3, FLT3LG, FLT4, GLI1, HCLS1, HOXC10, HTR1A, IGF1, IGF1R, IL2, IL3, IL6, IL7, IL9, IL8RB, IL11, IL12RB1, IL12RB2, IL15, CXCL10, LIF, LRP5, LYN, MATK, MST1R, MYC, NAP1L1, NOL1, PDGFA, PGF, POU3F2, PRTN3, PTHLH, PTN, REG1A, TSPAN31, CLEC11A, CCL14, CXCL5, SLAMF1, SSR1, TBX2, TBX3, TDGF1, TGFB2, TGFBR1, TGFBR2, TIMP1, TSHR, TTK, TNFSF4, VEGFA, VEGFB, VIP, VIPR1, FOSL1, CDC7, CUL3, CDC2L5, TNFSF13, TNFRSF11A, FGF18, NRP1, CDC123, TBRG4, EDG5, GLP2R, CIAO1, PBEF1, DNAJA2, TCIRG1, STAMBP, TNFSF13B, FGFR1OP, TBC1D8, MCTS1, SERTAD1, DERL2, TIPIN, SIRPG, MARK4, PDF, IL31RA, SPDYA, FGF10, CD3E, CD28, IL4, NCK1, PTPRC, NCK2, IL21, CD276, ANG, CDH13, SCG2, TNFSF12, AGGF1, ELA2, EREG, EGFR, ERBB2, LAMB1, LAMC1, NME1, NME2, TGFA, EPGN, LAMA1, EBI3, CD24, IL12B, IL18, ICOSLG, BMI1, CDK4, CDK6, CDKN1A, NDUFS4, SPHK1
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	ABI3, RTN4, PARD6B, NEXN, NF1, ACVRL1, ALOX15B, NF2, PTEN, SHH, TBX5, THY1, VCL, GTPBP4, CLIC4, BMP10, CENTD3, MIA3, CDH13, EGFR, LAMB1, TDGF1, TRIP6, SPHK1, BCAR1, ANGPTL3, PLG, AMOT

【０２７０】

【表２－２０２】

標準名	メンバー記号化
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION	ADRA1D, ADRA2A, ALOX12, RHOG, BCGF1, BNC1, BTC, CAPN1, CAPNS1, CCKBR, CD86, CD47, CD81, CDC25B, CDK2, CHRM1, CHRNA7, CSF1, CSF3, CTF1, DDX11, DHPS, EDG3, EDN1, EGR4, PTK2B, FGF4, FGF7, FIGF, FLT1, FLT3, FLT3LG, FLT4, GLI1, HCLS1, HOXC10, HTR1A, IGF1, IGF1R, IL2, IL3, IL6, IL7, IL9, IL8RB, IL11, IL12RB1, IL12RB2, IL15, CXCL10, LIF, LRP5, LYN, MATK, MST1R, MYC, NAP1L1, NOL1, PDGFA, PGF, POU3F2, PRTN3, PTHLH, PTN, REG1A, TSPAN31, CLEC11A, CCL14, CXCL5, SLAMF1, SSR1, TBX2, TBX3, TDGF1, TGFB2, TGFBR1, TGFBR2, TIMP1, TSHR, TTK, TNFSF4, VEGFA, VEGFB, VIP, VIPR1, FOSL1, CDC7, CUL3, CDC2L5, TNFSF13, TNFRSF11A, FGF18, NRP1, CDC123, TBRG4, EDG5, GLP2R, CIAO1, PBEF1, DNAJA2, TCIRG1, STAMBP, TNFSF13B, FGFR1OP, TBC1D8, MCTS1, SERTAD1, DERL2, TIPIN, SIRPG, MARK4, PDF, IL31RA, SPDYA, FGF10, CD3E, CD28, IL4, NCK1, PTPRC, NCK2, IL21, CD276, ANG, CDH13, SCG2, TNFSF12, AGGF1, ELA2, EREG, EGFR, ERBB2, LAMB1, LAMC1, NME1, NME2, TGFA, EPGN, LAMA1, EBI3, CD24, IL12B, IL18, ICOSLG, BMI1, CDK4, CDK6, CDKN1A, NDUFS4, SPHK1
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION	ABI3, RTN4, PARD6B, NEXN, NF1, ACVRL1, ALOX15B, NF2, PTEN, SHH, TBX5, THY1, VCL, GTPBP4, CLIC4, BMP10, CENTD3, MIA3, CDH13, EGFR, LAMB1, TDGF1, TRIP6, SPHK1, BCAR1, ANGPTL3, PLG, AMOT

【０２７１】

【表２－２０３】

標準名	PMID	著者
POSITIVE_REGULATION_OF_CELL_PROLIFERATION		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.
REGULATION_OF_CELL_MIGRATION		Ashburner M, Ball CA, Blake JA, Botstein D, Butler H, Cherry JM, Davis AP, Dolinski K, Dwight SS, Eppig JT, Harris MA, Hill DP, Issel-Tarver L, Kasarskis A, Lewis S, Matese JC, Richardson JE, Ringwald M, Rubin GM, Sherlock G.

【０２７２】

総合すると、前述の結果は初代ＮＳＣＬＣ培養物における分化階層を定義しており、レチノイン酸の分化が腫瘍原性プロファイルを部分的に逆転させることができることを示している。

【０２７３】

（実施例４）

非小細胞肺癌の細胞異種移植片における腫瘍開始細胞の同定

初代異種移植系は、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ、米国マサチューセッツ州Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎから入手した雌の無胸腺症のｎｕ／ｎｕ（ヌード）およびＮＯＤ－ＳＣＩＤマウス（１８～２３ｇ）を用いて調製した。選別した細胞の腫瘍形成能を評価するために、細胞を、５０％のＭａｔｒｉｇｅｌ（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中で、肩甲骨の間に皮下移植した。典型的には、Ｈ４６０ＴおよびＨＣＣ２４２９では、１匹のヌードマウスあたり１００個の選別した細胞を移植した。３７６２２系では、１匹のヌードマウスあたり２５００個の細胞を移植した。６０２５７系では、１匹のｎｏｄ－ｓｃｉｄマウスあたり５０００個の細胞を移植した。腫瘍は、少なくとも週に１度測定し、腫瘍体積＝０．５×（腫瘍の幅^{2}）×（腫瘍の長さ）とした。それぞれの移植系は、生じた異種移植片の断片を新しい動物内に外移植することによって増殖させ、したがって、主にｉｎ　ｖｉｖｏで維持した。それぞれの系で、異種移植片の組織学は元の腫瘍のそれに似ていた。実験を低継代数の異種移植片で行って繰り返すことができるように、試料を低温保存した。

【０２７４】
初代移植片の免疫組織化学的分析を、標準の技法を用いて行い、５Ｔ４の異種発現が明らかとなった。いくつかの複数の移植系において、最も高い５Ｔ４発現は腫瘍－間質の界面で観察された。３７６２２細胞を用いて調製した異種移植片では、上皮－間葉の分化の移行のマーカーであるビメンチンについて同様の染色パターンが観察された。ビメンチンは、６０２７４細胞を用いて調製した異種移植片では検出されなかった。
【０２７５】
また、異種移植片中での異種５Ｔ４発現は、フローサイトメトリーによっても観察された。解離した３７６２２移植片は明確に区別できる５Ｔ４^{高}を示し、生きたヒト細胞で５Ｔ４^{低}集団が明らかであった（図８Ａ）。無血清培養物を３７６２２異種移植片から確立した際、すべての細胞が高い５Ｔ４を発現し（図８Ａ）、これは幹細胞の成長を促進する培養条件と一致していた。これらの細胞を動物内に再移植した場合、生じた腫瘍は５Ｔ４発現について異種であった（図８Ａ）。
【０２７６】
Ｈ４６０Ｔの場合ように５Ｔ４発現がより高い腫瘍原性と関連していたかどうかを決定するために、一次移植異種移植片を解離し、ＦＡＣＳで単離した細胞を動物内に移植した。３７６２２および６０２５７移植系において、５Ｔ４^{高}細胞は５Ｔ４^{低}細胞よりも腫瘍原性が高かった（図８Ｂ）。
【０２７７】
（実施例５）
腫瘍開始細胞のさらなるバイオマーカー
細胞を培養細胞系から収集し（実施例１および２に記載）、溶解緩衝液（ＱＩＡＧＥＮ、米国カリフォルニア州Ｖａｌｅｎｃｉａ）に再懸濁させ、ＱＩＡＧＥＮ　ＲＮＥＡＳＹ（登録商標）カラムを用いて、製造者の指示に従って、全ＲＮＡを精製した。異種移植腫瘍には（実施例４に記載）、腫瘍試料を最初に３ｍｌの氷冷した４Ｍのグアニジニウム／１０％の酢酸ナトリウム緩衝液（ＲＮＡＧＥＮＴＳ（登録商標）、Ｐｒｏｍｅｇａ、米国ウィスコンシン州Ｍａｄｉｓｏｎ）中の超音波処理によって破壊し、フェノール－クロロホルム－イソアミルアルコール（５０：４８：２）で２×抽出し、同体積のイソプロパノールを用いてＲＮＡを水相から沈殿させた。続いて、沈殿物を溶解緩衝液（ＱＩＡＧＥＮ）に再懸濁させ、ＱＩＡＧＥＮ　ＲＮＥＡＳＹ（登録商標）カラムを用いて、製造者の指示に従って、全ＲＮＡを精製した。
【０２７８】
ＳＵＰＥＲＳＣＲＩＰＴ（登録商標）キット（Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ、米国メリーランド州Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ）を用いて、本質的にＢｙｒｎｅら、Ｆ．ｅ．ａ．Ａｕｓｕｂｅｌ編、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、２０００、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ：Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　ａｎｄ　Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．に記載されているように、１０μｇの全ＲＮＡからｃＤＮＡを合成した。第１の鎖の合成は、リボソームＲＮＡからの誤プライミングを防止するために５０℃で実施し、続くｉｎ　ｖｉｔｒｏのアンチセンスＲＮＡ（ｃＲＮＡ）の増幅およびビオチン標識にポリ－Ｔプライマーを含有するＴ７　ＲＮＡポリメラーゼプロモーター（Ｔ７Ｔ２４）を利用した。ｃＤＮＡは、ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）試料クリーンアップモジュール（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、米国カリフォルニア州Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ）を用いて、製造者の指示に従って精製した。合成のためのｉｎ　ｖｉｔｒｏのＴ７ポリメラーゼに駆動される転写反応およびアンチセンスｃＲＮＡのビオチン標識には、ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）発現３’－増幅試薬キット（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、米国カリフォルニア州Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ）を製造者の指示に従って利用した。合成されたｃＲＮＡはＱＩＡＧＥＮ　ＲＮＥＡＳＹ（登録商標）カラムを用いて精製した。
【０２７９】
それぞれの試料について、１０μｇのビオチン標識したｃＲＮＡを断片化し、製造者によって推奨される緩衝液および条件を用いて、ヒトゲノムＵ１３３＋２ＧＥＮＥＣＨＩＰ

（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイ（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、米国カリフォルニア州Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ）とハイブリダイズさせた。ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）オリゴヌクレオチドアレイを洗浄し、ストレプトアビジンＲ－フィコエリスリン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐｒｏｂｅｓ、米国オレゴン州Ｅｕｇｅｎｅ）を用いて、ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）Ｆｌｕｉｄｉｃｓ　Ｓｔａｔｉｏｎ４５０を使用して染色し、Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ　ＧＥＮＥＣＨＩＰ（登録商標）Ｓｃａｎｎｅｒ３０００（Ａｆｆｙｍｅｔｒｉｘ、米国カリフォルニア州Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ）を用いて、製造者の指示に従って走査した。蛍光データを収集し、マイクロアレイスイート５．０（ＭＡＳ５）ソフトウェアを用いて遺伝子特異的なシグナル強度に変換し、ここで、遺伝子に特異的なオリゴヌクレオチドを含有する完全一致と単一のミスマッチのプローブ組との間の平均の蛍光の差異を用いてｍＲＮＡシグナル強度を決定する。分析には、同型試料の平均ｍＲＮＡシグナル強度を実験群のそれぞれについて決定した。遺伝子を最初にフィルタリングして、すべての試料がＭＡＳ５ソフトウェアによって存在しない（Ａｂｓｅｎｔ）と示されたプローブを除去した。続いて、平均シグナル強度の値を実験群間で比較して、典型的には２倍を超える平均の倍数の変化を有する遺伝子を同定した。

【０２８０】

以下の遺伝子を含めたいくつかの遺伝子が腫瘍開始細胞中で示差的に発現されており、これらは$CD24^{-/低}CD44^{+}$腫瘍開始細胞中で上昇した発現を示していた：ＴＧＦβＲＩＩＩ、Ｕｎｃ５Ｄ、ＰＮＰＬＡ４、ＫＣＮＪ２、ＧＡＢＲＢ３、ＤＰＹＤ、ＳＰＡＧ１、ＩＣＫ、ＳＴＣ２、ＤＥＦβ１、および予想された遺伝子ＦＬＪ３８７３６。

【０２８１】

また、成長および分化における初代培養物の遺伝子発現プロファイル（実施例３を参照）を、Ｈ４６０Ｔ　$CD24^{-/低}CD44^{+}$および$CD24^{高}CD44^{+}$集団のそれとも比較した。初代培養物の分化中により高いレベルで発現された遺伝子の顕著な画分は、$CD24^{高}CD44^{+}$細胞中でもより高いレベルで発現されていた（ＦＤＲ＝０．００１５）。Ｈ４６０Ｔおよび８７４２６のデータ組の統計的な比較には、分化した８７４２６培養物中でアップレギュレートされていた上位２５０個の遺伝子をＨ４６０Ｔ集団中で比較した。図７Ｄは、Ｈ４６０Ｔデータ組においてノイズレベルを超える遺伝子の発現の差異を示す。統計的分析により偽発見率０．００１５が得られた。この分析は、これらの非常に異なる実験系がＮＳＣＬＣにおける分化階層の生理的モデルであることを示す。マイクロアレイのデータはフローサイトメトリーによって確認された（図７Ｅ～７Ｆ）。したがって、陽性選択、低レベルの発現、または分化した細胞の枯渇のいずれかによって腫瘍開始細胞を濃縮または単離するためのさらなるマーカーには、表１および２に記載のものが含まれる（実施例３を参照）。

【０２８２】

（実施例６）

Ｓｏｘ２は肺癌の腫瘍開始細胞の分化を調節する

$CD24^{高}$へと移行したクローンを安定化したクローン（＞９９％の$CD24^{-/低}$）と比較するために、遺伝子発現プロファイリングを$CD24^{-/低}CD44^{+}$クローンのパネルで行った。$CD24^{-/低}CD44^{+}$細胞をそれぞれのクローンから選別し、実施例５に記載のようにＲＮＡをマイクロアレイ分析用に抽出した。

【０２８３】

安定した$CD24^{-/低}CD44^{+}$クローンおよび移行中の$CD24^{-/低}CD44^{+}$クローンの遺伝子発現プロファイルは全体的に類似であったが、一部の遺伝子のｍＲＮＡレベルは移行効率と相関していた。たとえば、Ｓｏｘ２のｍＲＮＡレベルは安定したクローン中よりも移行中のクローン中で高かった（図９Ａ）。Ｓｏｘ２は幹細胞における多能性および自己複製に必要な転写因子であり（Ａｖｉｌｉｏｎら、Ｇｅｎｅｓ　Ｄｅｖ．、２００３、１７：１２６～１４０、Ｂｏｙｅｒら、Ｃｅｌｌ、２００５、１２２：９４７～９５６）、分化した細胞中の多能性の誘発に寄与する可能性がある（ＴａｋａｈａｓｈｉおよびＹａｍａｎａｋａ、Ｃｅｌｌ、２００６、１２６：６６３～６７６）。親Ｈ４６

０Ｔ細胞では、Ｓｏｘ２はＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$腫瘍開始細胞中では発現されたが、ＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞中では発現されなかった。

【０２８４】

Ｓｏｘ２がＣＤ２４$^{－／低}$からＣＤ２４^{高}の発現への移行を調節できるかどうかを試験するために、外因性Ｓｏｘ２を安定したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$クローン内に導入した。ＧｅｎｅＣｏｐｏｅｉａ（米国メリーランド州Ｇｅｒｍａｎｔｏｗｎ）製の発現ベクターＥＸ－Ｔ２５４７－Ｍ４６（Ｓｏｘ－２）およびＥＸ－Ｍ０４２５－Ｍ４６（Ｓｏｘ－１１）を、Ａｍａｘａ　ｎｕｃｌｅｏｆｅｃｔｏｒ溶液Ｖ、プログラムＴ－０２０（２μｇのＤＮＡ／１０^{6}個の細胞）を用いてＨ４６０Ｔクローン内に導入した。安定したクローンを、Ｓｏｘ２－Ｆｌａｇ、Ｓｏｘ１１－Ｆｌａｇ、空のベクター、またはＤＮＡなしを用いて形質移入した。形質移入の４８時間後、Ｇ４１８を４００μｇ／ｍｌまで加えた。細胞をＧ４１８中で６日間インキュベーションし、続いてＧ４１８なしでインキュベートした。免疫ブロット分析を実施例２に記載のように実施し、これにより、示した導入遺伝子の発現が確認された（図９Ｂ）。Ｇ４１８中での６日間の選択およびさらに２週間の培養後、３つの安定したＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$クローンのすべてが、Ｓｏｘ２－Ｆｌａｇを用いて形質移入した後にＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$細胞の大きな画分を示したが、Ｓｏｘ１１－Ｆｌａｇまたは空のベクターを用いた場合はそうではなかった（図９Ｃ～９Ｄ）。これらのデータにより、Ｓｏｘ２がＣＤ２４$^{－／低}$からＣＤ２４^{高}への移行を駆動するために十分であることが示され、多能性腫瘍開始細胞の分化における役割が示された。

【０２８５】

（実施例７）

抗５Ｔ４抗体／薬物のコンジュゲートを用いた腫瘍細胞の成長の阻害

ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$集団は、細胞生存度アッセイおよびコロニー成長アッセイにおいてＣＤ２４^{高}ＣＤ４４$^{＋}$集団よりも抗５Ｔ４抗体－薬物のコンジュゲートに対する感受性が高かった。それぞれのアッセイについて、抗体－カリチアマイシンＡｃＢｕｔ連結（ＡｃＢｕｔ－ＡｃＢｕｔ－［４－（４－アセチルフェノキシ）ブタン酸］）のコンジュゲートを記載のように調製した（Ｈａｍａｎｎら、Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．、２００２、１３：４７～５８）。選別した細胞に対する抗５Ｔ４　ｈｕＨ８抗体－薬物のコンジュゲートまたは抗ＣＤ２２抗体－薬物のコンジュゲートの効果を、細胞生存度の指示薬（（３－（４，５－ジメチルチアゾール－２－イル）－５（３－カルボキシメトキシフェノール－２－（４－スルホフェニル）－２Ｈ－テトラゾリウム（ＭＴＳ）（Ｐｒｏｍｅｇａ、米国ウィスコンシン州Ｍａｄｉｓｏｎ）を用いて評価して、薬物処理に曝した後の生存した細胞の数を決定した。細胞はアッセイ開始の１８時間前に選別した。細胞を９６ウェルのマイクロタイタープレートに１０，０００個の細胞／ウェルの密度で播種し、様々な濃度の薬物に曝した。９６時間の薬物への曝露を生存した生細胞数を決定した後、それぞれの処理のＩＣ$_{50}$は、用量応答曲線から誘導したロジスティック退縮パラメータに基づいて計算した。ＩＣ$_{50}$値はロジスティック非直線退縮によって計算し、５０％の細胞生存度の低下を引き起こすそれぞれの処置群のカリチアマイシンジメチルヒドラジド（ＣａｌｉｃｈＤＭＨ）の濃度として報告する。ＣＤ２４$^{－／低}$ＣＤ４４$^{＋}$細胞は、抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートに対して１０倍を超える感度を有していた（図１０Ａ）。抗ＣＤ２２－カリチアマイシンのコンジュゲートまたはカリチアマイシン単独で処理した場合に、２つの集団間の差異は観察されなかった（図１０Ａ）。

【０２８６】

コロニー形成アッセイを行うために、細胞を２４ウェルプレートに５，０００個の細胞／ウェルの密度で播種した。播種の２４時間後、細胞を様々な濃度（０．０００９７、０．０００３９０、０．００１５６、０．００６２５、０．０２５、０．１、０．４ｎｇのカリチアマイシン相当／ｍｌ）の抗５Ｔ４　Ｈ８－ＡｃＢｕｔのコンジュゲート、抗ＣＤ２２　ＡｃＢｕｔのコンジュゲート、またはカリチアマイシン単独に曝した。薬物に曝した７２時間後、細胞をトリプシン処理し、計数し、２００個の細胞を６ウェルプレートに播種した。８日後、コロニーを固定し、メチレンブルーで染色した。ステレオスコープ

を用いてコロニー数／ウェルを計数した。ＣＤ２４$^{－}$／^{低}ＣＤ４４$^{＋}$細胞はコンジュゲートに対して１０倍を超える感度を有していた（図１０Ｂ）。抗ＣＤ２２－カリチアマイシンのコンジュゲートまたはカリチアマイシン単独で処理した場合に、２つの集団間の差異は観察されなかった（図１０Ｂ）。

【０２８７】

５Ｔ４発現が腫瘍形成能と直接関連していたかどうかを試験するために、Ｈ４６０Ｔ細胞を５Ｔ４^{高}および５Ｔ４^{低}の発現に基づいて選別し、マウス内に皮下移植した。５Ｔ４^{高}細胞の腫瘍は５Ｔ４^{低}細胞の腫瘍よりも大きかった（ｐ＜０．０３、図１１）。この実験ではＨ４６０Ｔクローン系２４Ｎ－２６を使用し、これは、親系と比較してより高い５Ｔ４発現のレベルならびに増加した５Ｔ４^{高}および５Ｔ４^{低}発現の分解能を示す。

【０２８８】

（実施例８）

抗５Ｔ４抗体／薬物のコンジュゲートを用いた腫瘍の退縮

ヌード（３７６２２用）またはｎｏｄ－ｓｃｉｄ（６０２７４用）マウスに、低継代数の初代移植片の断片を肩甲骨の間に皮下注射した。腫瘍が０．２～０．５ｇの質量に達した際、治療を投与する前に様々な処置群間で腫瘍質量が均質であることを確実にするために、腫瘍をステージングした。抗５Ｔ４　ｈｕＨ８抗体および抗ＣＤ３３　ｐ６７．６抗体を、記載のようにアミドリンカーを介してカリチアマイシンとコンジュゲートさせた（Ｈａｍａｎｎら、Ｂｉｏｃｏｎｕｇ．Ｃｈｅｍ．、２００２、１３：４０～４６）。「アミド」リンカーは、カリチアマイシンの、抗体－薬物のコンジュゲートを内部移行させる細胞への放出を制限する（Ｈａｍａｎｎら、Ｂｉｏｃｏｎｕｇ．Ｃｈｅｍ．、２００２、１３：４０～４６）。抗体－薬物のコンジュゲートまたはビヒクルを、無菌生理食塩水（０．２ｍｌ／マウス）中で、１日目にそれぞれ腹腔内投与し、同じ処置を４日間の間隔で２回繰り返した（Ｑ４Ｄ×３）。カリチアマイシンコンジュゲートは、１６０μｇ／ｋｇのＣａｌｉｃｈＤＭＨの用量で投与した。腫瘍は少なくとも週に１度測定し、その質量は体積＝０．５×（腫瘍の幅^{2}）（腫瘍の長さ）とした。それぞれの処置群の平均腫瘍体積（±ＳＥＭ）を計算し、片側ｔ検定を用いた統計的有意性のためにビヒクルで処置した群と比較し、ｔ検定の誤差項はすべての処置群にわたるプールした分散に基づく。それぞれの処置群の腫瘍値は、処置開始の１２０日後まで、または腫瘍を保有するマウスが死亡するまでもしくは腫瘍が体重の１５％まで成長するまで（この時点で、これらのマウスは施設の規制に従って安楽死させた）記録した。抗ＣＤ３３コンジュゲートは、これらの異種移植片がＣＤ３３を発現しないため、対照として役割を果たした。

【０２８９】

抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートを用いた処置により、３７６２２異種移植片が完全に根絶され、研究の終わりである最後の投薬の１２０日後まで、再成長は観察されなかった（図１２Ａ）。ビヒクルまたは抗ＣＤ３３－カリチアマイシンのコンジュゲートで処置した異種移植片は大きな腫瘍へと成長した。同様に、６０２７４異種移植片を抗５Ｔ４－カリチアマイシンのコンジュゲートで処置することで、腫瘍が有意に退縮した（図１２Ｂ）。対照的に、６０２７４腫瘍を最大の耐容用量のシスプラチンで処置することで、腫瘍の大きさが一過的に低下し、腫瘍は投薬レジメンの完了後に急速に再成長した（図１２Ｃ）。６０２７４細胞は、３７６２２細胞と比較して５Ｔ４をより低いレベルで発現した（図１３）。これらの結果は、異種５Ｔ４発現を有するＮＳＣＬＣ初代移植片の成長阻害に対する抗５Ｔ４抗体－カリチアマイシンのコンジュゲートの特異的な効果を実証している。

【図１－１】

図１Ａ

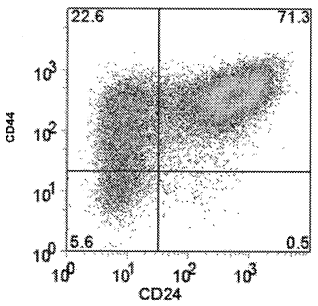
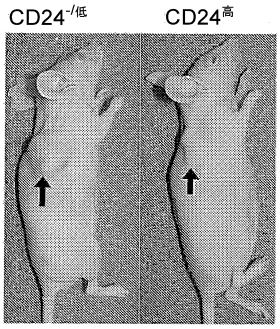
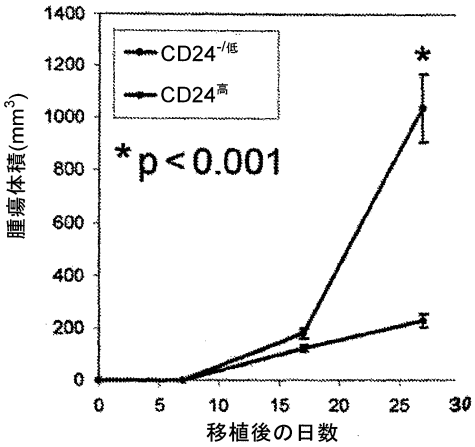


図１Ｂ



【図１－２】

図１Ｃ



【図１－３】

図１Ｄ

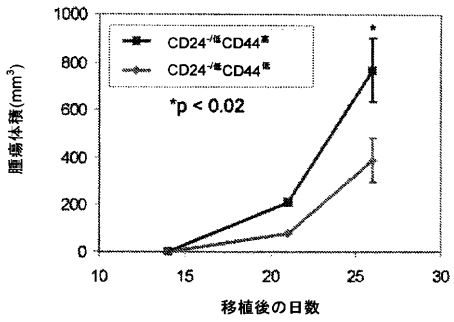
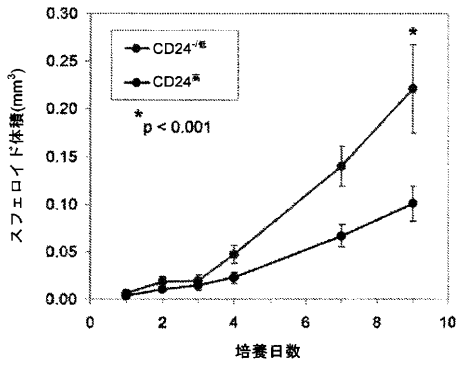


図１Ｅ



【図１－４】

図１Ｆ

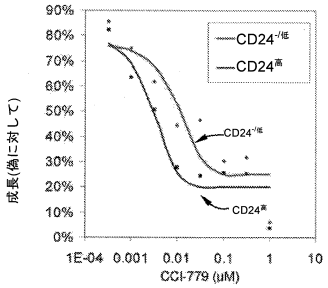


図１Ｇ

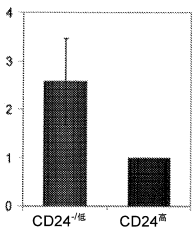
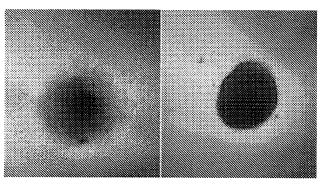


図１Ｈ



【図２】

図２Ａ

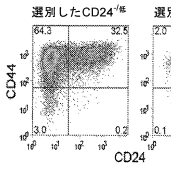


図２Ｂ

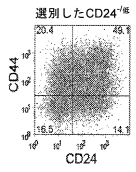


図２Ｃ

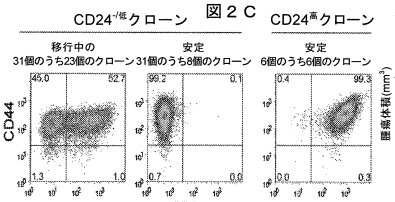


図２Ｄ

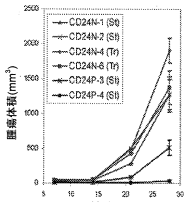
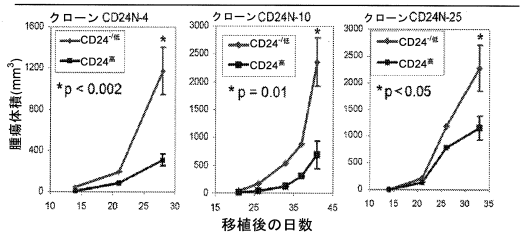


図２Ｅ



【図３】

図３Ａ

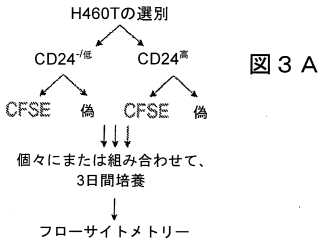


図３Ｂ

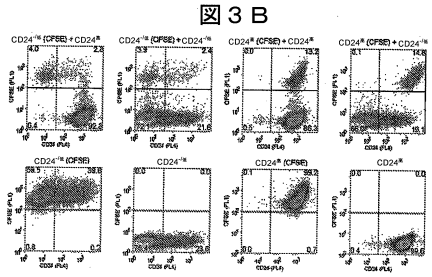
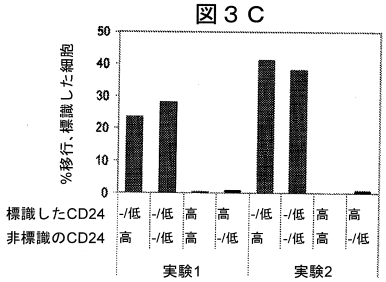


図３Ｃ



【図４】

図４Ａ

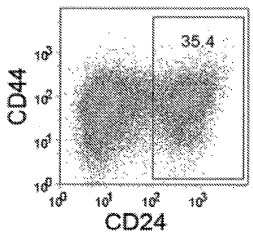


図４Ｂ

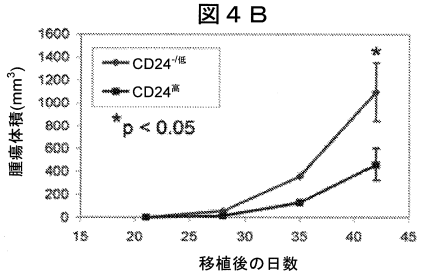
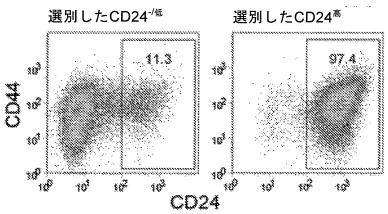
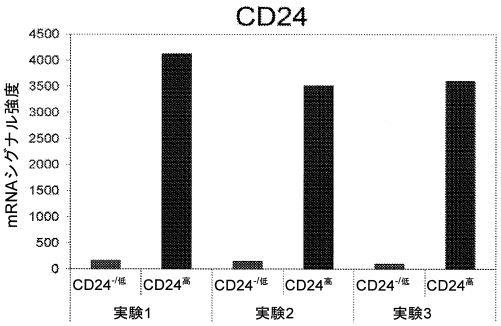


図４Ｃ



【図５】

図５



【図６】

図６Ａ

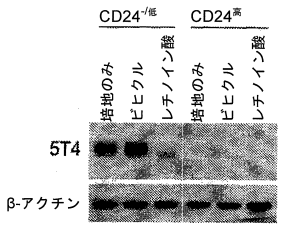
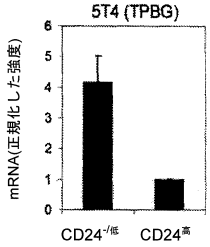


図６Ｂ



【図７－１】

図７Ａ

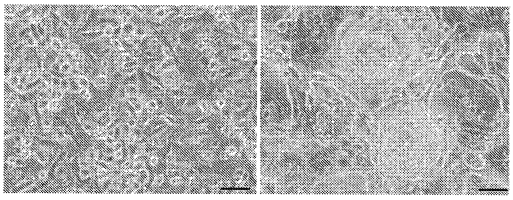


図７Ｂ

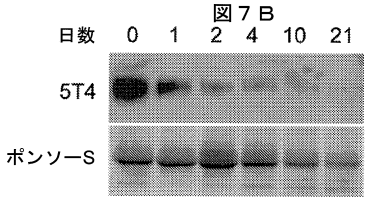
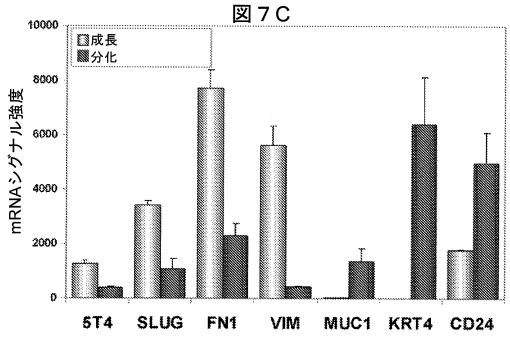
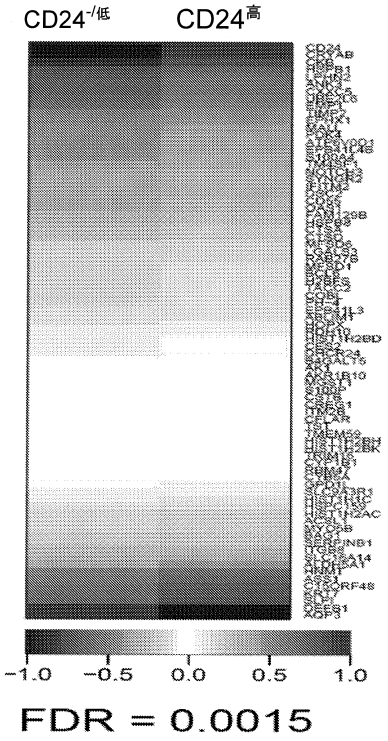


図７Ｃ



【図７－２】

図７Ｄ



【図７－３】

図７Ｅ

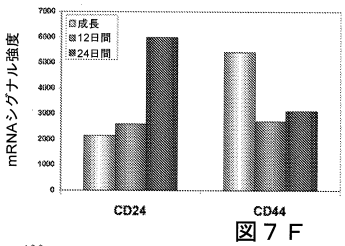


図７Ｆ

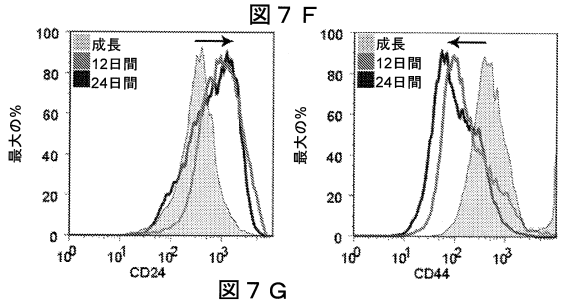
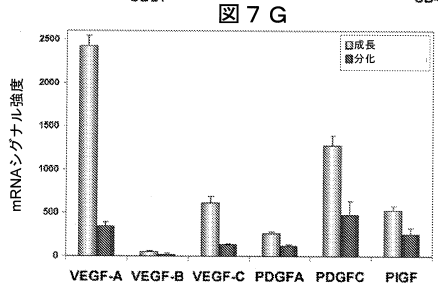


図７Ｇ



【図８】

図８Ａ

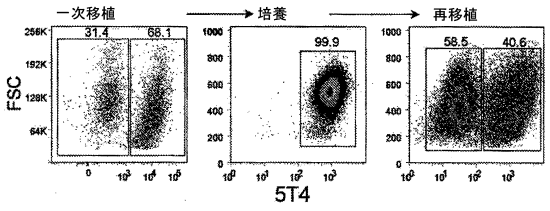


図８Ｂ

移植系	腫瘍の数：	
	5T4[高]	5T4[-/低]
37622#1	6/10	1/10
37622#2	12/20	2/20
60257#1	6/10	2/10
60257#2	12/20	4/20

【図９】

図９Ａ

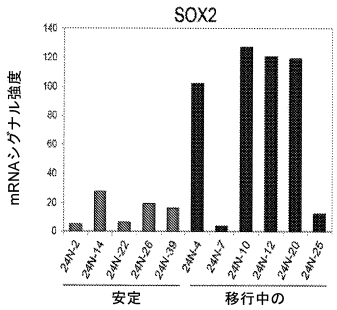


図９Ｂ

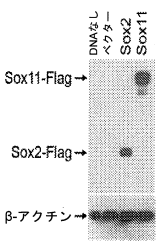


図９Ｃ

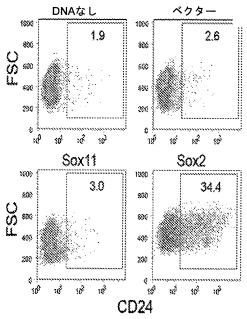
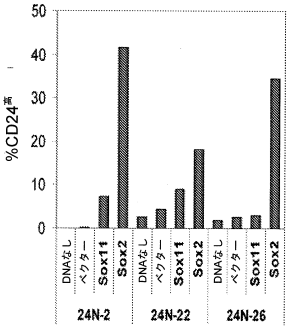


図９Ｄ



【図１０】

図１０Ａ

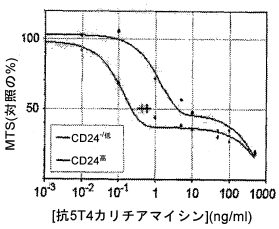
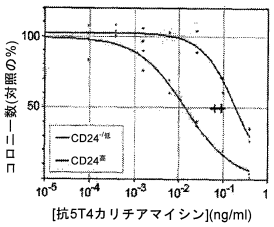
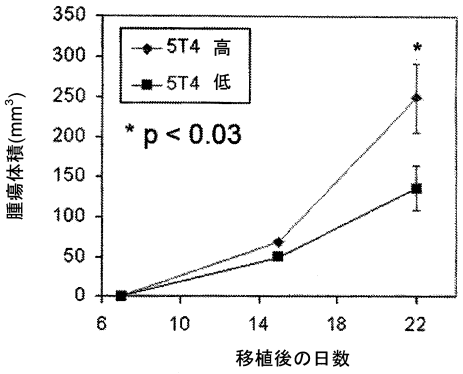


図１０Ｂ



【図１１】

図１１



【図１２－１】

図１２Ａ

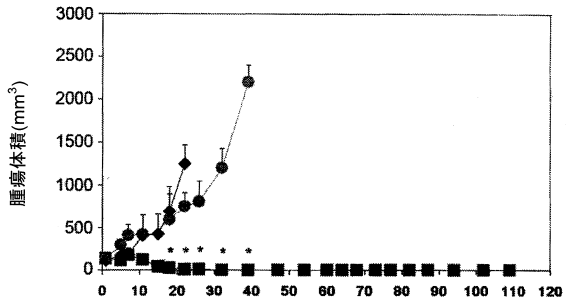
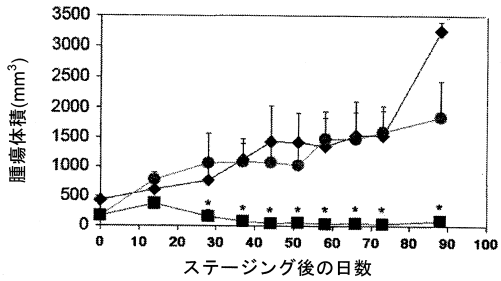
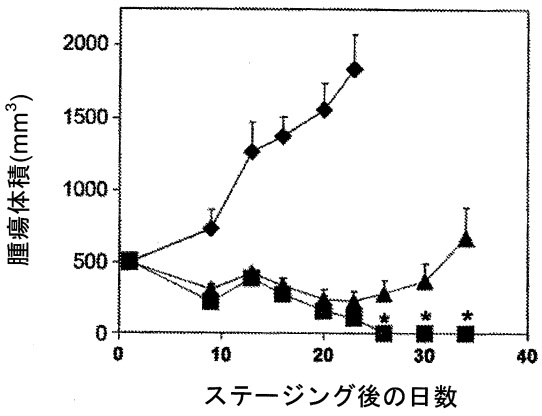


図１２Ｂ



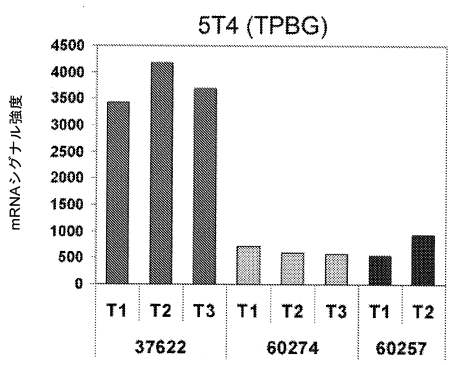
【図１２－２】

図１２Ｃ



【図１３】

図１３


5T4 (TPBG)
mRNAシグナル強度
4500
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
T1
T2
T3
T1
T2
T3
T1
T2
37622
60274
60257

フロントページの続き

(74)代理人 100131934
弁理士 ▲高▼橋 宏次
(72)発明者 マーク イサック ダメリン
アメリカ合衆国 ０７６５６ ニュージャージー州 パークリッジ市 パイン・ドライブ １０
(72)発明者 ケネス ジー. ゲレス
アメリカ合衆国 １０９６８ ニューヨーク州 ピエモント市 エイピーティ. ビー オハイオ・ストリート ６１
(72)発明者 ジョナサン ピー. ゴラス
アメリカ合衆国 ０７４２１ ニュージャージー州 ヘウィット市 レイクショア・ドライブ １００
(72)発明者 アーウィン ボガート
アメリカ合衆国 ５３１５８ ウィスコンシン州 プレザント・プライリー スピングブルックアールディ. ４５１０
(72)発明者 ビン－ビング エス. チョウ
アメリカ合衆国 ０７４２３ ニュージャージ州 ホーホークス プレスコット・ロード １８

審査官 上條 肇

(56)参考文献 PNAS, ２００３年, Vol.100, No.7, p.3983-3988

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
Ｃ１２Ｎ ５／００ － ５／０９５
ＰｕｂＭｅｄ