

(19) 日本国特許庁(JP)

再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02012/002011

発行日 平成25年8月22日 (2013.8.22)

(43) 国際公開日 平成24年1月5日 (2012.1.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12Q 1/68 (2006.01)	C12Q 1/68 ZNAA	4B024
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 A	4B063
G01N 33/53 (2006.01)	G01N 33/53 M	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 58 頁)

出願番号	特願2012-522484 (P2012-522484)	(71) 出願人	599045903 学校法人 久留米大学 福岡県久留米市旭町67番地
(21) 国際出願番号	PCT/JP2011/058094		
(22) 国際出願日	平成23年3月30日 (2011.3.30)	(71) 出願人	504145342 国立大学法人九州大学 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号
(31) 優先権主張番号	特願2010-147797 (P2010-147797)	(71) 出願人	394009245 株式会社久留米リサーチ・パーク 福岡県久留米市百年公園1番1号
(32) 優先日	平成22年6月29日 (2010.6.29)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 稔
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
		(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん患者に対する免疫療法の治療効果の予測方法、ならびに該方法に用いる遺伝子セットおよびキット

(57) 【要約】

がん患者に対する免疫療法の治療効果を予測するために有用な遺伝子セットを提供する。また、遺伝子セットを構成する各遺伝子の発現量を定量することを含む、免疫療法が有効であるか否かを判定する方法を提供する。当該判定方法は、がん患者の治療方針を決定するために有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、免疫療法前のがん患者から採取された試料において、表 1 または表 1 9 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法。

【請求項 2】

遺伝子セットが、LOC653600、TNFRSF19、P4HA1 および SYNE1 を含む、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、免疫療法後のがん患者から採取された試料において、表 3 4 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法。

10

【請求項 4】

遺伝子セットが、DEFA1、DEFA4、CEACAM8 および MPO を含む、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、免疫療法前のがん患者から採取された試料において、表 3 5 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法。

【請求項 6】

遺伝子セットが、LRRN3、PCDH17、HIST1H4C および PGLYRP1 を含む、請求項 5 に記載の方法。

20

【請求項 7】

さらに、該発現レベルを用いて判別分析を行い、該患者の予後を判定する工程を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

予後不良群を予測するための、請求項 1 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

免疫療法がペプチドワクチン療法である、請求項 1 ~ 8 のいずれかに記載の方法。

【請求項 10】

がんが前立腺癌である、請求項 1 ~ 9 のいずれかに記載の方法。

30

【請求項 11】

がん患者から採取された試料が、血液である、請求項 1 ~ 10 のいずれかに記載の方法。

【請求項 12】

がん患者に対する免疫療法の効果を予測するための、表 1、1 9、3 4、または 3 5 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セット。

【請求項 13】

遺伝子セットが、表 2 または 2 2 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる、請求項 1 2 に記載の遺伝子セット。

【請求項 14】

LOC653600、TNFRSF19、P4HA1 および SYNE1 を含む、請求項 1 2 または 1 3 に記載の遺伝子セット。

40

【請求項 15】

DEFA1、DEFA4、CEACAM8 および MPO を含む、請求項 1 2 ~ 1 4 のいずれかに記載の遺伝子セット。

【請求項 16】

LRRN3、PCDH17、HIST1H4C および PGLYRP1 を含む、請求項 1 2 ~ 1 5 のいずれかに記載の遺伝子セット。

【請求項 17】

請求項 1 2 ~ 1 6 のいずれかに記載の遺伝子セットからなるがん患者に対する免疫療法

50

の効果を予測するためのバイオマーカー。

【請求項 18】

表 1、19、34、または 35 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子に特異的にハイブリダイズするように設計されたプローブ。

【請求項 19】

請求項 18 に記載のプローブおよび / または表 1、19、34、または 35 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子に特異的にハイブリダイズするプライマーを含むキット。

【請求項 20】

プローブおよびプライマーが以下 (1) ~ (4) :

(1) 配列番号 1 の配列からなるプライマー、配列番号 2 の配列からなるプライマーおよび配列番号 3 の配列からなるプローブ ;

(2) 配列番号 4 の配列からなるプライマー、配列番号 5 の配列からなるプライマーおよび配列番号 6 の配列からなるプローブ ;

(3) 配列番号 7 の配列からなるプライマー、配列番号 8 の配列からなるプライマーおよび配列番号 9 の配列からなるプローブ ; および、

(4) 配列番号 10 の配列からなるプライマー、配列番号 11 の配列からなるプライマーおよび配列番号 12 の配列からなるプローブ ;

のいずれかの組み合わせである、請求項 19 に記載のキット。

【請求項 21】

がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、免疫療法前のがん患者から採取された血液において、IL-6タンパク質の発現量を測定する工程、を含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、がん患者に対する免疫療法の治療効果の予測方法、ならびに前記方法に用いる遺伝子セットおよびキット等に関する。

【背景技術】

【0002】

各種がんに対する免疫療法は、一部奏効する症例があるものの、すべての患者にとって最適な治療法とはなりえていない。その原因の一つとして、免疫療法が、がん細胞の増殖を抑えるために個人差の大きい免疫能を介していることが上げられる。がんの免疫療法には、現在その効果を予測する方法がなく、治療を行って見なければ有効性を判断することができない。これまでに、乳癌患者において遺伝子発現レベルを測定し化学療法の効果を予測する方法が知られているが、この方法は遺伝子発現と他の因子とを組み合わせる複雑な系であり、また、乳癌に対する化学療法の効果のみを対象としている (特許文献 1)。がんの免疫療法の治療効果や、免疫療法後の患者の予後を予測する方法はこれまで知られていない。

【特許文献 1】特表 2008 - 536094

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

本発明は、がん患者に対する免疫療法の治療効果を精度よく予測する方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明者らは、長年におよぶ前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法で得られた結果に基づき、がん免疫療法の治療効果を予測することを試みた。まず、ペプチドワクチン療法前または後の前立腺癌患者における遺伝子発現プロファイルを DNA マイクロアレイで解析した。次いで、治療後の生存日数を基準として患者を予後良好群と予後不良群に分

10

20

30

40

50

類し、予後良好群と予後不良群を治療前の発現レベルから正確に予測できる遺伝子または遺伝子群を選別した。そして、これら遺伝子の発現レベルから、免疫療法の治療効果を予測できることを確認し、本発明を完成するにいたった。

【0005】

すなわち、本発明は、1つの態様において、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、

(1) 免疫療法前または後のがん患者から採取された試料において、表1、表19、表34または表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法を提供する。

上記がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法は、さらに、

(2) 該発現レベルを用いて判別分析を行い、該患者の予後を判定する工程、を含んでもよい。

【0006】

別の態様において、本発明は、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するための、表1、表19、表34または表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子からなる遺伝子セットおよび表1、表19、表34または表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子からなるがん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのバイオマーカーを提供する。

【0007】

さらに別の態様において、本発明は、上記遺伝子セットの各遺伝子に対するプローブおよびプライマー、および、上記遺伝子セットの各遺伝子に対するプローブ、プライマー、および/または上記遺伝子セットの各遺伝子の発現産物を特異的に認識する抗体を含むがん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのキットを提供する。

【0008】

さらにまた、別の態様において、本発明は、免疫療法が有効であると予測されるがん患者のスクリーニング方法であって、

(1) 免疫療法前のがん患者から採取された試料において、表1、表19、表34または表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法を提供する。

上記がん患者のスクリーニング方法は、さらに、

(2) 該発現レベルを用いて判別分析を行い、該患者の予後を判定する工程、を含んでもよい。

さらにまた、別の態様において、本発明は、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法であって、

免疫療法前または後のがん患者から採取された血液において、IL-6蛋白質の発現レベルを測定する工程、を含む方法を提供する。血中のIL-6蛋白質量は、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのバイオマーカーともなり得る。

【発明の効果】

【0009】

本発明により、がん患者の遺伝子発現プロファイルを免疫療法開始前に測定することで、その患者に対する免疫療法の治療効果を予測することが可能である。本発明は、免疫療法による効果が期待できない患者(予後不良群)の予測を可能とし、がん患者に対する治療法の選択に有用な情報を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】T検定における16968遺伝子の分布。縦軸は2群間の有意水準、横軸は2群間の遺伝子の発現の比の対数を示す。n=40(短命20名、長命20名)。

【図2】Wilcoxon検定における16968遺伝子の分布。縦軸は2群間の有意水準、横軸は2群間の遺伝子の発現の比を示す。n=40(短命20名、長命20名)。

【図3】T検定における13遺伝子の分布。縦軸は2群間の有意水準、横軸は2群間の遺伝子

10

20

30

40

50

の発現の比の対数を示す。n = 40 (短命20名、長命20名)。

【図4】Wilcoxon検定における13遺伝子の分布。縦軸は2群間の有意水準、横軸は2群間の遺伝子の発現の比を示す。n = 40 (短命20名、長命20名)。

【図5】判別に優位な遺伝子。縦軸は、判別率80%以上の遺伝子セットに用いられる頻度を示す。

【図6】ワクチン投与前(A)またはワクチン投与後(B)の末梢血単核球(PBMCs)における長命群および短命群の遺伝子発現の相違を示す。

【図7】DEFA1(A)、DEFA4(B)、CEACAM8(C)およびMPO(D)について、ワクチン投与後の末梢血単核球(PBMCs)における長命群(Long)および短命群(Short)の遺伝子発現量をリアルタイムPCRにより定量した結果を示す。GAPDHを内部標準として各遺伝子の発現量を定量した。

【図8】長命群(Long)および短命群(Short)の患者血漿中におけるIL-6タンパク量の定量結果をしめす。統計学的検定は、Mann-Whitney testを用いた。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

本発明は、一つの態様において、がん患者から採取された試料における1またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することを含む、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法を提供する。この予測方法は、その発現レベルにより、がん患者の免疫療法後の予後を予後良好群と予後不良群に正しく予測できる遺伝子セットを利用する。上記予測方法は、表1、表19、表34または表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1種類の遺伝子の発現レベルを利用してよい。上記予測方法は、免疫療法の効果が期待できない患者、免疫療法の効果が期待できる患者あるいは免疫療法に対し治療抵抗性を示す患者を予測し、免疫療法の適用または不適用を決定する方法として利用可能である。

【0012】

本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットの遺伝子の数および種類には特に制限はなく、表1に示す54種類の遺伝子、表19に示す100種類の遺伝子、表34に示す遺伝子、表35に示す遺伝子および/またはIL-6遺伝子から任意に選択することができる。

【0013】

好ましくは、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、表2に示す13種類の遺伝子から選択される、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、または13種類の遺伝子から構成される。遺伝子セットは、LOC653600、TNFRSF19、P4HA1、SYNE1の4種類の遺伝子を含むことが好ましい。具体的な遺伝子セットとしては、LOC653600、TNFRSF19、P4HA1およびSYNE1からなる遺伝子セット、LOC653600、TNFRSF19、G3BP2、ZNF83、C6orf222、ZBTB20、P4HA1、GP1BA、HLA-A29.1、SYNE1およびNAP1L1からなる遺伝子セット、表10の1番目、表11の1~18番目、表12の1~55番目、表13の1~71番目、表14の1~63番目、表15の1~45番目、表16の1~22番目、または表17の1~7番目に示す遺伝子セットが挙げられる。

【0014】

別の好ましい実施態様において、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、表20に示す29種類の遺伝子から選択される1~29種類、例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11種類の遺伝子から構成される。具体的な遺伝子セットとしては、表23~33に示す遺伝子セットが挙げられる。当業者は、実施例の記載にしたがい、12種類以上の遺伝子を含む遺伝子セットも適宜選択することができる。

【0015】

別の好ましい実施態様において、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、表34に示す遺伝子から少なくとも1個選択される遺伝子から構成される。遺伝子セットは、DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPOの4種類の遺伝子を含むことが好ましい。具体的な遺伝子セットとしては、DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPOからなる遺伝子セット、またはDEFA1、DEAF3、DEFA4、ELA2、CSTG、CAMP、MPO、MMP9、およびCEACAM8からなる

10

20

30

40

50

群から少なくとも1個選択される遺伝子からなる遺伝子セットが挙げられる。

【0016】

別の好ましい実施態様において、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、表35に示す遺伝子（PRKAR1A、LRRN3、PCDH17、TTN、LAIR2、RNASE3、CEACAM6、AZU1、HIST1H4C、PGLYRP1、CEACAM8、LCN2、MPO、CAMP、DEFA1、DEFA3、CTSG、DEFA4、ELA2）から少なくとも1個選択される遺伝子から構成される。遺伝子セットは、LRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1の4種類の遺伝子を含むことが好ましい。具体的な遺伝子セットとしては、LRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1からなる遺伝子セット、またはLRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1からなる群から少なくとも1個選択される遺伝子からなる遺伝子セットが挙げられる。

10

別の好ましい実施態様において、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、IL-6遺伝子からなる、またはIL-6遺伝子を含む。

別の好ましい実施態様において、本発明の一態様である上記予測方法に用いる遺伝子セットは、LOC653600、TNFRSF19、P4HA1、SYNE1、DEFA1、DEFA4、CEACAM8、MPO、LRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1からなる群から少なくとも1個選択される遺伝子からなる遺伝子セットまたはLOC653600、TNFRSF19、P4HA1、SYNE1、DEFA1、DEFA4、CEACAM8、MPO、LRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1からなる群から少なくとも1個選択される遺伝子を含む遺伝子セットが挙げられる。

【0017】

本明細書において、がん患者はヒトであれば特に限定されず、例えば前立腺癌、膵臓癌、乳癌、肝臓癌などの患者が挙げられる。前立腺癌は、進行性再燃前立腺癌であり得る。

20

【0018】

本明細書において、免疫療法とは、がん患者における腫瘍抗原タンパク質に対する免疫応答を賦活化することによりがんを治療する方法を意味する。免疫療法としては、腫瘍抗原ペプチドを用いるペプチドワクチン療法、細胞傷害性T細胞やナチュラルキラー細胞などのリンパ球を用いる養子免疫療法、腫瘍抗原タンパク質や腫瘍抗原ペプチドを発現するウイルスベクターを生体に導入するDNAワクチン、腫瘍抗原ペプチドを提示する樹状細胞を投与する樹状細胞ワクチンなどが挙げられる。免疫療法の好適な一例には、ペプチドワクチン療法が挙げられる。

【0019】

遺伝子の発現レベルは、常套的方法により測定され得る。発現レベルの測定方法としては、DNAマイクロアレイ法、DNAチップ法、PCR法（リアルタイムPCR法を含む）、ノーザンブロット法などが挙げられる。発現レベルの測定方法の好適な一例には、DNAマイクロアレイ法が挙げられる。

30

【0020】

DNAマイクロアレイ法では、測定対象とする遺伝子に対するプローブを含むマイクロアレイを使用する。使用可能なマイクロアレイの一例としては、Illumina社製 HumanWG-6 v3.0 Expression BeadChipが挙げられる。あるいは、測定対象の遺伝子に対するプローブを合成し、スライドガラスなどの適当な基盤上に固定して、所望のマイクロアレイを作製してもよい。マイクロアレイの作製方法は、当業界にて周知である。マイクロアレイデータの解析も周知であり、例えば「統合ゲノミクスのためのマイクロアレイデータアナリシス」（星田有人訳 シュプリングー・フェアラク東京社出版）を参考に行うことができる。

40

【0021】

遺伝子発現レベルの測定に用いるヒトである患者の試料は、限定はされないが、例えば患者から採取した末梢血を使用することができる。末梢血のうち、ミエロイド細胞(MDCs)、granulocytic MDSCs、末梢血単核球(PBMCs)、顆粒球または赤血球を、遺伝子発現レベルの測定に用いてもよい。また、患者由来の試料は、免疫療法前に採取した試料、免疫療法後に採取した試料、または免疫療法前および後に採取した試料であってもよい。免疫療法前に採取した試料を使用して、本発明の一態様である上記予測方法を実施することによ

50

り、免疫療法の効果が期待できない患者であるか、または免疫療法の効果が期待できる患者であるかを予測し、免疫療法の適用または不適用を決定してもよい。また、免疫療法後に採取した試料を使用して、本発明の一態様である上記予測方法を実施することにより、試料採取時点より後に、免疫療法の効果が期待できるか否かを予測し、更なる免疫療法の適用または不適用を決定してもよい。

【0022】

DNAマイクロアレイ法による遺伝子発現レベルの測定は、例えば以下のとおりである。はじめに、患者の末梢血から全RNAを抽出し、精製する。次いで、Illumina TotalPrep RNA Amplification Kit (アンピオン社製)などを使用し、ビオチン化cRNAを合成する。このビオチン化cRNAをマイクロアレイにハイブリダイズさせ、次いでCy3標識ストレプトアビジンと反応させる。反応後のマイクロアレイを専用のスキャナーでスキャンし、BeadStudioなどの専用ソフトウェアを用いて各スポットのCy3の蛍光を数値化することで、各遺伝子の発現レベルを得ることができる。

10

【0023】

PCRを利用して遺伝子発現レベルを測定する場合は、例えば、試料中のmRNAからcDNAを調製し、このcDNAを鋳型としてPCRを行うことにより、試料中の遺伝子発現量を定量できる。PCRによる遺伝子発現量の定量は、リアルタイムPCRを利用してもよい。PCRに用いるプライマーは、目的の遺伝子に特異的にハイブリダイズすることができるように、当業者により適宜設定されうる。また、リアルタイムPCRは、目的の遺伝子に特異的にハイブリダイズし、PCR産物を定量できるように、蛍光色素を結合させたプローブを用いてもよく、当該プローブは、当業者により適宜設計され得る。SYBR (登録商標) Green等の蛍光色素を用いてリアルタイムPCRをおこなってもよい。

20

【0024】

また、遺伝子の発現レベルは、その発現産物であるタンパク質の発現レベルを測定することによっても測定することもできる。細胞膜あるいは細胞質に局在しているタンパク質は蛍光色素で標識した抗体を用い、フローサイトメトリーにより測定できる。あるいは酵素抗体法(ELISA)やウエスタンブロット法なども利用可能である。

【0025】

本発明の一態様であるがん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法は、がん患者から採取された試料における1またはそれ以上の遺伝子の発現レベルを測定することに加えて、さらに、測定した発現レベルを用いて判別分析を行うことを含み得る。判別分析を行った結果、免疫療法の効果の有無等の患者の予後を判定することができる。判別分析は、例えば、実施例に記載したように実施できる。具体的には、判定に用いる遺伝子を選択し、既知のデータ(学習用データ)をもとに判別関数を得る。そして、対象とする患者の遺伝子発現レベルをあてはめ、当該患者が1(長命)または0(短命)である確率を計算する。確率が50%を超えた結果(長命(予後良好)または短命(予後不良))が、その患者の予後と判定される。長命(予後良好)の確率が50%を超えた場合、免疫療法は当該患者に有効であると予測される。一方、短命(予後不良)の確率が50%を超えた場合、免疫療法は当該患者に有効でないと予測される。

30

【0026】

判別分析は、統計解析ソフトSAS(SAS Institute Japan株式会社)や統計解析ソフトJMP(SAS Institute Japan株式会社)などを用いて行うことができる。学習用データの数は特に限定されず、当業者は予測を実施可能な学習用データの数を適宜決定することができる。

40

【0027】

また、十分な症例数(例えば、100、1000症例)の長命(予後良好)および短命(予後不良)の各個体において、判定に用いる遺伝子の標準発現レベル(長命または短命個体の発現レベルの標準値)を把握し、対象である患者の該遺伝子の発現レベルを、当該標準値と比較して、該患者の予後を判定してもよい。例えば、DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPO遺伝子の発現量が長命群の標準値より高ければ、免疫療法の効果が期待できない患者であ

50

り、予後良好でないと判定される。DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPO遺伝子の各発現量の標準値は、例えば、図7のように設定できる。

【0028】

なお、以下の実施例では生存日数480日を基準として遺伝子を選択し、生存日数480日を基準として判定の正誤を判断している。しかしながら、実施例の40名の前立腺患者は生存日数900日以上、または生存日数300日以下の患者のみであったため、生存日数301～899日のいずれを基準としても本発明の遺伝子セットと同じ遺伝子セットが選択されることになる。よって、長命または短命の定義の基準日は生存日数301～899日の範囲であればいずれの日数であってもよく、480日に限定されない。

【0029】

上記本発明の一態様である、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法は、免疫療法の効果が期待できない患者であるか、または免疫療法の効果が期待できる患者であるかを予測し、免疫療法の適用または不適用を決定する方法として利用することができる。よって、上記がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法は、免疫療法が有効であると予測されるがん患者のスクリーニング方法であり得る。

さらに、医師は、上記がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法によって得られた結果に基づき、がん患者の治療方針を決定することができる。よって、本発明は、一態様として、上記がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法を行うことを含む、がんの診断または治療方法を提供する。

【0030】

本発明は、また、一態様として、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するために使用される遺伝子セットを提供する。当該遺伝子セットは、上記本発明の一態様である、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法で用いる遺伝子セットと同じであり、本発明の予測方法に用いるDNAマイクロアレイ用のプローブやPCR用プライマーなどを作製するために用いることができる。

【0031】

本発明は、また、一態様として、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのバイオマーカーを提供する。本明細書において、バイオマーカーは、免疫療法の効果を予測するための指標になり得るものであり、遺伝子であっても、それが発現したタンパク質であってもよい。上記本発明の一態様である、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法で用いる遺伝子セットを、バイオマーカーとして使用することができる。例えば、バイオマーカーは、表1、19、34または35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子、LOC653600、TNFRSF19、P4HA1およびSYNE1を含む遺伝子、DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPOを含む遺伝子、またはLRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1を含む遺伝子であり得る。DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPOをバイオマーカーとして使用する場合、これら遺伝子発現量が長命群の標準値に比較し高いことは、免疫療法が有効でないとの予測の指標となり得る。

また、上記本発明の一態様である、がん患者に対する免疫療法の効果を予測する方法で用いる遺伝子セットの発現産物であるタンパク質を、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのバイオマーカーとして使用してもよい。例えば、血中のIL-6蛋白質をバイオマーカーとしてもよい。患者血中のIL-6蛋白質が長命群の標準値に比較し多い場合には、免疫療法が有効でないとの予測の指標となり得る。なお、血中のIL-6蛋白質量の標準値は、例えば、図8を参考にして、短命群：4.8pg/ml、長命群：3.3pg/mlと設定してもよい。

【0032】

本発明は、また、一態様として、本発明の遺伝子セットの各遺伝子あるいは遺伝子発現産物の発現レベルを測定することができる、プローブ、プライマー、または抗体を提供する。各遺伝子に対するプローブおよびプライマーは、その遺伝子の配列情報に基づき、常套的方法により合成することができる。プローブおよびプライマーは、例えば各遺伝子の配列の一部に相補的な配列を有し、各遺伝子に特異的にハイブリダイズすることができる

10

20

30

40

50

。

本明細書において、「特異的にハイブリダイズする」とは、例えば、「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする」ことである。「ストリンジェントな条件」とは、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (2001)などに基つき当業者が適宜決定しうるものであるが、例えば0.2xSSC、0.1%SDS、65 などが挙げられる。

プライマーは、各遺伝子またはその一部を増幅するためのPCRに用いることができるように設計され得る。各遺伝子の配列情報は、本明細書中の表に記載するGenBank Accession番号にしたがい得ることができる。また、抗体の作製方法も当業界にて周知である（“Antibodies: A Laboratory Manual”, Lane, H. D. et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989）。

例えば、DEFA1、DEFA4、CEACAM8およびMPOのそれぞれのプローブおよびプライマーは、実施例で記載した配列番号1～8のオリゴヌクレオチドであり得る。

抗体は、ポリクローナル抗体であっても、モノクローナル抗体であってもよく、またFab、F(ab')₂、およびFvのような抗体断片であってもよい。

【0033】

本発明は、また、一態様として、上記プローブ、プライマー、および/または抗体を含む、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するためのキットを提供する。

キットは、例えば、DNAマイクロアレイ法、DNAチップ法、PCR法（リアルタイムPCR法を含む）、ノーザンブロット法、蛍光抗体法、酵素抗体法、ウエスタンブロット法などに用いられるキットである。DNAマイクロアレイ法用のキットとしては、前記

プローブが適当な基盤上に固定されたマイクロアレイを含むものが挙げられる。また、キットは、例えば、血中のIL-6蛋白質量を定量するために、抗IL-6ポリクローナル抗体または抗IL-6モノクローナル抗体を含んでもよい。

キットは、測定方法に応じて、その他必要な試薬を含んでもよい。

【0034】

本発明は、また、一態様として、がん患者に対する免疫療法の効果を予測するための遺伝子セットの選択方法を提供する。当該遺伝子セットの選択方法は、例えば、工程1：免疫療法の効果があった群（長命群）と免疫療法の効果がなかった群（短命群）のそれぞれのがん患者由来の試料において発現している遺伝子の発現量を定量する工程；

工程2：免疫療法の効果があった群（長命群）と免疫療法の効果がなかった群（短命群）の間での遺伝子発現量の差異と、その統計学的有意差に基つき、免疫療法の効果を予測するマーカーとなり得る遺伝子を選択する工程；および

工程3：選択した遺伝子の中で、免疫療法の効果を予測するために最も良い組み合わせを変数選択により決定する工程を含む。

遺伝子発現量の差異は、例えば、短命群での発現量/長命群での発現量を求め、 \log_2 「短命群での発現量/長命群での発現量」の値に基つき評価してもよい。

統計学的有意差は、t検定および/またはWilcoxon検定を用いてもよく、Limmaの方法（Smyth. Linear models and empirical bayes methods for assessing differential expression in microarray experiments. Statistical applications in genetics and molecular biology (2004) vol.3 pp. Article 参照）を用いてもよい。

例えば、上記工程2において、 \log_2 「短命群での発現量/長命群での発現量」 <-1.0 または >1.0 かつP値（limma） <0.01 の条件を満たす遺伝子を選択してもよい。

変数選択は当業者により適宜実施されることができる。例えば、Sungwoo Kwon et al: DNA Microarray Data Analysis for Cancer Classification Based on Stepwise Discriminant Analysis and Bayesian Decision Theory. Genome Informatics 12: 252-254 (2001)に記載されているStepwise Discriminant Analysis (SDA)を実施してもよい。SDAの実施例としては、以下の(i)～(iii)：

(i) 1個の遺伝子を遺伝子セットに加えることによりWilksのラムダ(Wilk's lambda)が明らかに減少する場合、その遺伝子を遺伝子セットに加える；

(ii) そして、1個の遺伝子を遺伝子セットから除くことによりWilksのラムダ(Wilk'

10

20

30

40

50

s lambda) の増加が僅かな場合、その遺伝子を遺伝子セットから除く；

(i i i) 上記 (i) および (i i) の工程を、統計学的観点から、Wilksのラムダ (Wilk's lambda) が変化しなくなるまで繰り返す、
を実施することが挙げられる。

【 0 0 3 5 】

以下、実施例により本発明をさらに説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【 実施例 1 】

【 0 0 3 6 】

実施例 1

1 : DNA マイクロアレイによるペプチドワクチン療法前の遺伝子発現プロファイルの検討

患者試料として、久留米大学倫理委員会により承認されたプロトコールに即してインフォームドコンセントを得た前立腺癌患者から過去の臨床試験において再燃前立腺癌と診断された時点で収集した末梢血を使用した。40名の前立腺癌患者において、DNA マイクロアレイ (Illumina社製 HumanWG-6 v3.0 Expression BeadChip) を用いて、ペプチドワクチン療法前の遺伝子発現プロファイル調べた。前立腺癌患者は、予後良好群 (ペプチドワクチン療法後の生存日数 900 日以上) 20名、予後不良群 (ペプチドワクチン療法後の生存日数 300 日以下) 20名であった。

【 0 0 3 7 】

(I) 患者末梢血からの RNA 抽出・精製

1 . 患者末梢血サンプルにTRIzol LS (インビトロジェン社製) を 1 : 3 の比率になるように添加し、混濁した。

2 . TRIzol LS溶液 750 μ L に対し、200 μ L のクロロホルムを加え、混濁後、遠心分離した。

3 . 上清を新しいチューブに移し、上清の 0 . 55 倍量のエタノールを添加した。

4 . SV Total RNA Isolation System (プロメガ社製) のカラムに上記 3 . の検体をのせ、フィルターを通した。

5 . フィルターを 500 μ L の Wash Buffer で洗浄した。

6 . 全 RNA を 80 μ L の Nuclease Free Water で溶出した。

7 . 分光光度計を用いて、RNA の濃度を測定し、Experionシステム (バイオラッド社製) を用いて電気泳動により RNA のクオリティをチェックした。

【 0 0 3 8 】

(I I) Illumina TotalPrep RNA Amplification Kit (アンピオン社製) を用いたマイクロアレイ用 cRNA の合成

(1) 逆転写による一本鎖 cDNA の合成

1 . 各 500 μ g の全 RNA に Nuclease Free Water を加え、11 μ L に調整した。

2 . 上記 1 . の溶液に 9 μ L の Reverse Transcription Master Mix を加え、42 $^{\circ}$ C で 2 時間インキュベートした。

【 0 0 3 9 】

(2) 二本鎖 cDNA 合成

1 . 80 μ L の Second Strand Master Mix を、上記 (1) 2 . の各々のチューブに添加した。

2 . 各チューブを 16 $^{\circ}$ C で 2 時間インキュベートした。

【 0 0 4 0 】

(3) cDNA 精製

1 . 250 μ L の cDNA Binding Buffer を各々のチューブに添加した。

2 . 上記 1 . の溶液を、cDNA Filter Cartridge にのせ、遠心によりフィルターを通した。

3 . フィルターを 500 μ L の Wash Buffer で洗浄した。

10

20

30

40

50

4. cDNAを19 μ Lの50 ~ 55 °Cに予熱しておいたNuclease Free Waterで溶出した。

【0041】

(4) インビトロ転写反応によるcRNA合成

1. 7.5 μ LのIVT Master Mixを、上記(3)4.で得られたcDNAサンプルに添加した。

2. 上記1.のチューブを37 °Cで14時間インキュベートした。

3. 上記2.のチューブに75 μ LのNuclease Free Waterを添加した。

【0042】

(5) cRNA精製

1. 350 μ LのcRNA Binding Bufferを各チューブに添加した。

2. 250 μ Lの100%エタノールを各チューブに加え、混濁した。

3. 上記2.のサンプルをcRNA Filter Cartridgeにのせ、遠心によりフィルターを通した。

4. 650 μ LのWash Bufferでフィルターを洗浄した。

5. cRNAを100 μ Lの50 ~ 55 °Cに予熱しておいたNuclease Free Waterで溶出した。

6. cRNA濃度をODで測定後、ハイブリダイゼーションサンプルとした。

【0043】

(III) マイクロアレイハイブリダイゼーション

(1) ハイブリダイゼーション用cRNAの調製

1. 各500 μ gの全RNAにNuclease Free Waterを加え、10 μ Lに調整した。

2. 上記1.の溶液に20 μ LのGEX-HYBを加え、65 °Cで5分インキュベートした。

(2) ハイブリダイゼーション

1. 専用チャンバーにセットしたHumanWG-6 v3.0 Expression BeadChipに、調製済みのcRNAサンプルをアプライした。

2. 専用チャンバーのふたを閉め、55 °Cで18時間インキュベートした。

【0044】

(IV) マイクロアレイ洗浄・染色

(1) アレイの洗浄

1. Wash E1BC溶液中で、マイクロアレイのカバーを外した。

2. アレイを速やかにスライドラックにセットし、55 °Cに予熱しておいた1x High-Temp Wash buffer内で10分間洗浄した。

3. アレイをWash E1BC溶液中で5分間洗浄した。

4. アレイをエタノール中で5分間洗浄した。

5. アレイをWash E1BC溶液中で5分間洗浄した。

6. 染色専用トレイに4 mLのブロックE1バッファーを準備し、アレイを一枚ずつセットし、室温で10分間ブロッキングを行った。

7. 染色専用トレイに2 mLのブロックE1バッファーに対して2 μ Lのストレプトアビジン-Cy3を加え、アレイを一枚ずつセットし、室温で10分間染色を行った。

8. アレイをWash E1BC溶液中で5分間洗浄後、遠心により乾燥した。

【0045】

(V) スキャニング、数値化

1. Illumina社専用スキャナーにアレイをセットし、標準モードでスキャンを行った。

2. スキャン終了後、専用ソフトウェアBeadStudioを用いて、マイクロアレイ上の各スポットの数値化を行った。

【0046】

得られたマイクロアレイデータは、VST (Variance Stabilizing Transformation)、及びRSN (robust spline normalization)を用いて正規化を行なった。陰性対照(マイクロアレイ上に存在しない遺伝子に対するプローブにより測定される遺伝子発現量)に対する

10

20

30

40

50

Presence Probability <0.05の遺伝子発現量を有意と判断した。40名中、70%以上の患者でPresence Probability <0.05の遺伝子を以下の実験に使用した。

【0047】

2：予測に用いる遺伝子の選択

実施例1の前立腺癌患者を、ペプチドワクチン療法後の生存日数を基準として、生存日数480日以上を予後良好群（長命群）、生存日数480日未満を予後不良群（短命群）と分類し、2群間を有意に区別できる遺伝子を選択した。解析には、t検定とWilcoxon（ウイルコクソン）検定を用いて行った。

具体的には、16968遺伝子について、短命群（S）と長命群（L）で、t検定およびWilcoxon検定を行った（図1、2）。その結果、t検定とWilcoxon検定で、有意水準「 $p \leq 0.001$ 」または「変動量（Fold Change）が2倍以上」となる54遺伝子を抽出した（表1）。54遺伝子の発現レベル（蛍光リーダー測定値）は、表1の「短命群の平均（S）」、「長命群の平均（L）」のカラムに示す。

【表1】

OBS	Probe_ID	Symbol	Accession	短命群の平均 (S)	長命群の平均 (L)	S - L	Pr > t	P-value, Kruskal-Wallis Test
2	150706	UGP2	NM_006759.3	7.9670	8.3141	-0.3471	0.0008	0.00088
4	510209	LOC643310	XM_926656.1	9.2936	9.6892	-0.3956	0.0005	0.00021
7	770400	LOC653600	XM_928349.1	9.8511	8.6911	1.1600	0.0416	0.08342
8	840064	LOC645489	XM_928514.1	7.2404	7.4395	-0.1990	0.0005	0.00097
11	840601	MEGF10	NM_032446.1	6.6521	6.6044	0.0477	0.0005	0.00097
12	870477	LOC728358	NM_001042500.1	11.6369	10.2926	1.3443	0.0219	0.03726
13	990315	TCP1	NM_030752.2	8.0893	8.3461	-0.2568	0.0008	0.00065
16	1400240	LDHB	NM_002300.4	10.8411	11.4466	-0.6055	<.0001	0.00008
17	1500047	RIN1	NM_004292.2	6.8923	6.7602	0.1322	0.0004	0.00088
18	1500735	CTSG	NM_001911.2	8.7810	7.5263	1.2547	0.0048	0.00869
19	1570392	IL21R	NM_181078.1	6.6201	6.5630	0.0571	0.0002	0.00088
23	1780709	DDX17	NM_030881.2	8.6347	9.0780	-0.4433	0.0005	0.00072
24	1780719	PTGES3	NM_006601.4	8.3710	8.8997	-0.5287	0.0002	0.00036
25	2030332	PTPN18	NM_014369.2	6.6984	6.6146	0.0838	<.0001	0.00003
28	2340091	LOC646135	XM_933437.1	6.8649	6.7536	0.1113	0.0006	0.00097
29	2360672	TNFRSF19	NM_148957.2	6.6360	6.5650	0.0710	0.0006	0.00080
30	2370754	G3BP2	NM_012297.3	6.6111	6.5557	0.0553	0.0002	0.00021
31	2480600	LOC728358	NM_001042500.1	11.7328	10.2900	1.4428	0.0148	0.02655
33	2680440		BF338665	6.6258	6.5641	0.0617	0.0005	0.00048
35	2900255	ZBTB45	NM_032792.2	6.8789	6.7543	0.1246	0.0003	0.00097
37	2970747	DEFA3	NM_005217.2	11.8854	10.4815	1.4039	0.0171	0.02476
38	3060288	NAIP	NM_004536.2	6.6667	6.5931	0.0736	<.0001	0.00017
39	3130296	AMY2A	NM_000699.2	7.2523	7.5351	-0.2828	0.0007	0.00065
40	3130370	ZNF83	NM_018300.2	7.4687	7.7744	-0.3057	0.0002	0.00023
41	3130477	C7orf28A	XM_001133729.1	7.7594	8.1429	-0.3834	0.0003	0.00080
43	3360228	RPS20	NM_001023.2	14.5907	14.7537	-0.1630	0.0007	0.00097
44	3390368	PDP2	NM_020786.1	6.6320	6.5632	0.0688	<.0001	0.00006
45	3420136	C6orf222	NM_001010903.3	6.5946	6.5441	0.0505	0.0004	0.00097
46	3440189	ZBTB20	NM_015642.3	7.5534	7.8405	-0.2871	0.0002	0.00044
48	3610521	PCDHGB6	NM_018926.2	6.8835	6.7067	0.1768	<.0001	0.00023
51	3990608	MAN2A1	NM_002372.2	8.5259	8.8533	-0.3274	0.0001	0.00021
52	4010632	LOC642946	XM_927142.1	6.6135	6.5408	0.0727	0.0002	0.00019
53	4120056	IQSEC2	NM_015075.1	6.6354	6.5576	0.0777	0.0002	0.00054
55	4150408	P2RY2	NM_002564.2	6.8606	6.6785	0.1821	<.0001	0.00002
58	4220731	P4HA1	NM_000917.2	7.8835	8.1913	-0.3078	0.0003	0.00039
59	4250154	LOC648749	XM_937834.2	6.5599	6.6215	-0.0617	0.0003	0.00044
60	4260767	GP1BA	NM_000173.4	7.0479	6.9170	0.1309	0.0004	0.00054
62	4540239	DEFA1	NM_004084.2	12.6997	11.3300	1.3697	0.0171	0.02655
65	4810072	TUSC2	NM_007275.1	7.3719	7.2093	0.1626	0.0002	0.00032
66	4830255	DPP4	NM_001935.3	6.8716	7.1790	-0.3074	<.0001	0.00019
68	5080692	HLA-A29.1	NM_001080840.1	11.3133	9.8801	1.4332	0.0823	0.11667
69	5290358	CPT1A	NM_001031847.1	6.9679	6.8024	0.1656	0.0003	0.00059
70	5550711	SYNE1	NM_182961.2	6.6852	6.6097	0.0755	0.0004	0.00072
71	5860075	CAMP	NM_004345.3	9.9646	8.9318	1.0328	0.0129	0.02000
72	5860465	USP9Y	NM_004654.3	6.6293	6.7238	-0.0945	0.0001	0.00054
73	5900129	CROP	NM_006107.2	7.9041	8.3479	-0.4438	0.0006	0.00065
74	5960072		BY797688	6.6802	6.7772	-0.0970	0.0003	0.00002
75	6110630	HIST1H2BK	NM_080593.1	10.7582	10.3790	0.3791	<.0001	0.00023
78	6420446	CMPK1	NM_016308.1	8.2399	8.6386	-0.3986	0.0007	0.00072
79	6550164	DEFA4	NM_001925.1	8.8054	7.5272	1.2782	0.0029	0.00380
83	6590484	NAP1L1	NM_139207.1	7.5255	7.8829	-0.3574	0.0006	0.00039
86	6940433	STAT5B	NM_012448.3	8.5812	8.8213	-0.2402	0.0007	0.00088
88	7150170	LOC728358	NM_001042500.1	11.6943	10.3009	1.3933	0.0209	0.04248
93	7650497	ELA2	NM_001972.2	8.9421	7.6222	1.3199	0.0022	0.00414

【0048】

さらに、選択された54遺伝子からt検定とWilcoxon検定における変数選択を行い(図3、4)、13遺伝子を選択した(表2)。

10

20

30

40

【表 2】

Probe_ID	Symbol	Accession	Pr > t	P-value, Kruskal-WallisTest
770400	LOC653600	XM_928349.1	0.0416	0.08342
2030332	PTPN18	NM_014369.2	<.0001	0.00003
2360672	TNFRSF19	NM_148957.2	0.0006	0.00080
2370754	G3BP2	NM_012297.3	0.0002	0.00021
3130370	ZNF83	NM_018300.2	0.0002	0.00023
3420136	C6orf222	NM_001010903.3	0.0004	0.00097
3440189	ZBTB20	NM_015642.3	0.0002	0.00044
4220731	P4HA1	NM_000917.2	0.0003	0.00039
4260767	GP1BA	NM_000173.4	0.0004	0.00054
5080692	HLA-A29.1	NM_001080840.1	0.0823	0.11667
5550711	SYNE1	NM_182961.2	0.0004	0.00072
5960072		BY797688	0.0003	0.00002
6590484	NAP1L1	NM_139207.1	0.0006	0.00039

10

【 0 0 4 9 】

3 . 選択された遺伝子の判別率

3 - 1 . 判別率の計算

選択された遺伝子による短命群・長命群の判別率を計算した。具体的には、データセットから学習用のデータとテスト用のデータに分けてモデルの構築・テストを行うために、交差確認 (cross-validation) を行った。交差確認法には、データセットから1つの個体を除いて学習を行い、学習データに用いていない1つの個体で判別モデルの評価を行う作業をすべての個体に対して繰り返して行う leave-one-out cross-validation を使用した。

20

【 0 0 5 0 】

例として、表 3 に示すプローブID 770400、3130370、4220731、5550711 の4種類の遺伝子を用いた解析結果を示す。解析には、統計解析ソフトSAS (SAS Institute Japan株式会社) および統計解析ソフトJMP (SAS Institute Japan株式会社) を使用した。

【表 3】

grp に対する線形判別関数		
変数	0	1
Constant	-7124	-7038
770400	10.47056	9.49131
3130370	148.16314	154.23258
4220731	62.46423	69.11172
5550711	1877	1850

30

【 0 0 5 1 】

表 4 は、40人の学習用データに対して、leave-one-out cross validation を行った結果を示すものである。つまり、表 3 の判別関数を用いて、症例がどの群に属するかを予測した表である。表中、(実群)は実際に属している群、(予測)は判別関数を用いて予測された群を表す。表から、S2_pre は 0 (短命群) 0 (短命群) へ正しく予測され、S10_pre は 0 (短命群) 1 (長命群) へ誤って予測されていることが分かる。表の*は実際に属している群とは異なる群へ予測された症例を示すものであり、全部で4人存在した。

40

【表 4】

判別規則データの判別結果: WORK.MOTHER
 相互検証法の結果: (線形判別関数)

grp での事後判別確率					
症例番号	群(実群): grp	群(予測): grp		0	1
S2_pre	0	0		0.9616	0.0384
S3_pre	0	0		0.9982	0.0018
S4_pre	0	0		0.8032	0.1968
S6_pre	0	0		0.9994	0.0006
S7_pre	0	0		0.9779	0.0222
S8_pre	0	0		0.7907	0.2093
L3_pre	1	1		0.2999	0.7001
L4_pre	1	1		0.1652	0.8348
L1_pre	1	1		0.3087	0.6913
S10_pre	0	1	*	0.1158	0.8842
S12_pre	0	0		0.9168	0.0832
S13_pre	0	0		0.9989	0.0011
S14_pre	0	0		0.9609	0.0391
S15_pre	0	0		0.9393	0.0607
S16_pre	0	0		0.9869	0.0131
S17_pre	0	0		0.9904	0.0096
S18_pre	0	0		0.9996	0.0004
S20_pre	0	0		0.9999	0.0001
S21_pre	0	1	*	0.4247	0.5753
S22_pre	0	0		0.9901	0.0099
S23_pre	0	0		0.9261	0.0739
S25_pre	0	0		0.6318	0.3682
S26_pre	0	1	*	0.021	0.979
L5_pre	1	1		0.0716	0.9284
L6_pre	1	1		0.0336	0.9664
L7_pre	1	1		0.0144	0.9856
L8_pre	1	1		0.0152	0.9848
L9_pre	1	0	*	0.9708	0.0292
L10_pre	1	1		0.0159	0.9841
L11_pre	1	1		0.3711	0.6289
L12_pre	1	1		0.0251	0.9749
L13_pre	1	1		0.0019	0.9981
L14_pre	1	1		0.005	0.995
L15_pre	1	1		0.0007	0.9993
L16_pre	1	1		0.178	0.822
L17_pre	1	1		0.0109	0.9891
L18_pre	1	1		0.0308	0.9692
L20_pre	1	1		0.1248	0.8752
L21_pre	1	1		0.0008	0.9992
L19_pre	1	1		0.001	0.999

10

20

30

【 0 0 5 2 】

表 5 は、表 4 の結果を 2×2 のクロス表にまとめたものである。

0 0 と正しく判別できている症例は 17人 ($17/20 = 0.85: 85\%$)、

1 1 と正しく判別できている症例は 19人 ($19/20 = 0.95: 95\%$)

であることが分かる。これが判別率である。

40

【表 5】

判別規則データの判別要約: WORK.MOTHER
相互検証法の要約: (線形判別関数)

grp に判別されるオブザベーション数と判別比率			
群(実群): grp	0	1	合計
0	17 85	3 15	20 100
1	1 5	19 95	20 100
合計	18 45	22 55	40 100
Priors	0.5	0.5	

10

【 0 0 5 3 】

表 6 は、11人のテスト用データに対して、表 3 の判別関数を用いて判別分析を行った結果である。表 6 は、表 4 と同様症例がどの群に属するかを予測した結果を示す。* のついた1名の症例 (4818441059_E) のみ、1 (長命群) 0 (短命群) へ誤って判別された。

【表 6】

テストデータの判別結果: WORK.TEST3
判別結果: (線形判別関数)

症例番号	grp での事後判別確率			
	群(実群): grp	群(予測): grp	0	1
4818441050_A	1	1	0	1
4818441050_B	1	1	0.0209	0.9791
4818441050_C	0	0	0.8952	0.1048
4818441050_D	1	1	0.34	0.66
4818441050_E	0	0	0.5882	0.4118
4818441050_F	0	0	0.9995	0.0005
4818441052_A	0	0	0.797	0.203
4818441059_C	0	0	0.6135	0.3865
4818441059_D	0	0	0.9108	0.0892
4818441059_E	1	0	* 0.9728	0.0272
4818441059_F	1	1	0.2316	0.7684

20

30

【 0 0 5 4 】

表 7 は、表 6 の結果を 2×2 のクロス表にまとめたものである。

0 (短命群) 0 (短命群) と正しく判別できている症例は 6人 (6/6 = 1.00: 100%)、
1 (長命群) 1 (長命群) と正しく判別できている症例は 4人 (4/5 = 0.80: 80%)
であることが分かる。

【表 7】

テストデータの判別要約: WORK.TEST3
判別要約: (線形判別関数)

grp に判別されるオブザベーション数と判別比率			
群(実群): grp	0	1	合計
0	6 100	0 0	6 100
1	1 20	4 80	5 100
合計	7 63.64	4 36.36	11 100
Priors	0.5	0.5	

40

【 0 0 5 5 】

以上から、プローブID 770400、3130370、4220731、5550711の4種類の遺伝子を用いて

50

判別分析を行うと、学習用データとテスト用データのいずれにおいても、症例の属する群を80%以上で正しく判別（予測）できることが分かる。

【0056】

3-2. 選択された遺伝子による判別率

次いで、上記2で選択された13遺伝子の組み合わせについて判別率を計算した。

【0057】

(1) 1遺伝子による判別率

学習用データ（40人）およびテスト用データ（11人）を使用し、13遺伝子のうち1遺伝子により長命または短命の判別が可能か否か（判別率が80%以上となるか）を検討した。

表8に示すように、長命の判別に関して学習用データ（40人）およびテスト用データ（11人）で80%以上の判別率で予測できる遺伝子は、13遺伝子のうち5960072（BY797688）の1種類であった。この遺伝子により予測すると、学習用データ（40人）を使った短命の判別率（ccvP0）は85%、テスト用データ（11人）を使った短命の判別率（ctcP0）は67%となった。一方、学習用データを使った長命の判別率（ccvP1）は85%、テスト用データを使った長命の判別率（ctcP1）は80%となった。

【表8】

OBS	rep	index	pbnum	pbl	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	flg0	flg1
1	13	12	1	5960072	85	66.67	85	80	0	1
2	13	4	1	2370754	65	83.33	90	20	0	0
3	13	2	1	2030332	75	50	75	60	0	0
4	13	3	1	2360672	60	33.33	75	60	0	0
5	13	9	1	4260767	70	100	75	20	0	0
6	13	13	1	6590484	85	0	70	80	0	0
7	13	7	1	3440189	70	66.67	70	60	0	0
8	13	8	1	4220731	80	66.67	70	40	0	0
9	13	5	1	3130370	75	83.33	65	60	0	0
10	13	6	1	3420136	65	83.33	65	40	0	0
11	13	11	1	5550711	80	66.67	65	20	0	0
12	13	1	1	770400	45	16.67	60	100	0	0
13	13	10	1	5080692	85	33.33	45	60	0	0

Pbnum: プローブ（遺伝子）の数

Pbl: プローブID

ccvP0: 学習用データ（40人）を使った0（短命）0（短命）の判別率

ctcP0: テスト用データ（11人）を使った0（短命）0（短命）の判別率

ccvP1: 学習用データを使った0（長命）0（長命）の判別率

ctcP1: テスト用データを使った0（長命）0（長命）の判別率

flg0: 短命の判別率が、学習用データとテスト用データとともに80%以上となったもの

flg1: 長命の判別率が、学習用データとテスト用データとともに80%以上となったもの

【0058】

(2) 2遺伝子による判別率

13遺伝子から任意の2遺伝子を選ぶ組み合わせは78種類あり、表9にその一部を示す。

例えば、長命の判別に関して学習データ（40人）およびテストデータ（11人）で80%以上の判別率で予測できる2種類の遺伝子プローブセットは、次の6セット（表9：1~6）（プローブ1/プローブ2 [学習用データ（40人）を使った短命の判別率（ccvP0）/テスト用データ（11人）を使った短命の判別率（ctcP0）；学習用データを使った長命の判別率（ccvP1）/テスト用データを使った長命の判別率（ctcP1）]：2360672/3130370（85/66.67;85/80），770400/2360672（70/33.33;80/80），770400/5960072（90/66.67；80/80），2360672/5080692（65/50；80/80），2360672/5960072（95/66.67；80/80），2360672/6590484（75/33.33；80/80）であった。一方、短命の判別に関して80%以上の判別率で予測できる2種類の遺伝子プローブセットは、次の15セット（表9：7~21）（プローブ1/プローブ2 [学習用データ（40人）を使った短命の判別率（ccvP0）/テスト用データ（11人）を使っ

た短命の判別率 (ctcP0) ; 学習用データを使った長命の判別率 (ccvP1) / テスト用データを使った長命の判別率 (ctcP1)] : 2370754 / 5960072 (80/83.33; 95/40), 3440189/5550711 (85/83.33.; 90/60), 3420136/5960072 (90/83.33; 90/40), : 2370754/4260767 (80/100; 90/0), 2030332/5550711 (90/83.33.; 85/60), 3420136/3440189 (85/83.33; 85/60), : 2370754/3130370 (80/83.33; 85/40), 2360672/4220731 (80/83.33.; 80/60), 3440189/4220731 (85/83.33.; 80/60), 4220731/4260767 (85/100.; 80/20), 4220731/5550711 (85/83.33; 75/60), 3420136/4220731 (95/83.33.; 75/40), 2370754/4220731 (95/83.33; 75/20), 2370754/5550711 (85/83.33.; 75/20/), 4260767/6590484 (80/100; 75/20) であった。

【表9】

OBS	rep	index	pbnum	pb1	pb2	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	flg0	flg1
1	78	25	2	2360672	3130370	85	66.67	85	80	0	1
2	78	2	2	770400	2360672	70	33.33	80	80	0	1
3	78	11	2	770400	5960072	90	66.67	80	80	0	1
4	78	30	2	2360672	5080692	65	50	80	80	0	1
5	78	32	2	2360672	5960072	95	66.67	80	80	0	1
6	78	33	2	2360672	6590484	75	33.33	80	80	0	1
7	78	41	2	2370754	5960072	80	83.33	95	40	1	0
8	78	61	2	3440189	5550711	85	83.33	90	60	1	0
9	78	56	2	3420136	5960072	90	83.33	90	40	1	0
10	78	38	2	2370754	4260767	80	100	90	0	1	0
11	78	21	2	2030332	5550711	90	83.33	85	60	1	0
12	78	51	2	3420136	3440189	85	83.33	85	60	1	0
13	78	34	2	2370754	3130370	80	83.33	85	40	1	0
14	78	28	2	2360672	4220731	80	83.33	80	60	1	0
15	78	58	2	3440189	4220731	85	83.33	80	60	1	0
16	78	64	2	4220731	4260767	85	100	80	20	1	0
17	78	66	2	4220731	5550711	85	83.33	75	60	1	0
18	78	52	2	3420136	4220731	95	83.33	75	40	1	0
19	78	37	2	2370754	4220731	95	83.33	75	20	1	0
20	78	40	2	2370754	5550711	85	83.33	75	20	1	0
21	78	72	2	4260767	6590484	80	100	75	20	1	0
22	78	14	2	2030332	2370754	80	66.67	95	60	0	0
23	78	16	2	2030332	3420136	90	66.67	95	60	0	0
24	78	1	2	770400	2030332	85	50	90	60	0	0
25	78	19	2	2030332	4260767	75	83.33	90	40	0	0
26	78	7	2	770400	4220731	70	66.67	85	60	0	0
27	78	15	2	2030332	3130370	80	66.67	85	60	0	0
28	78	17	2	2030332	3440189	90	50	85	60	0	0
29	78	22	2	2030332	5960072	95	50	85	60	0	0
30	78	23	2	2030332	6590484	85	50	85	60	0	0
31	78	31	2	2360672	5550711	75	83.33	85	60	0	0
32	78	78	2	5960072	6590484	80	50	85	60	0	0
33	78	3	2	770400	2370754	55	66.67	85	40	0	0
34	78	13	2	2030332	2360672	80	50	85	40	0	0
35	78	18	2	2030332	4220731	80	66.67	85	40	0	0
36	78	24	2	2360672	2370754	70	66.67	85	40	0	0
37	78	67	2	4220731	5960072	75	83.33	85	40	0	0
38	78	76	2	5550711	5960072	80	66.67	85	40	0	0
39	78	10	2	770400	5550711	80	66.67	80	60	0	0
40	78	36	2	2370754	3440189	75	100	80	60	0	0
41	78	48	2	3130370	5550711	65	100	80	60	0	0
42	78	49	2	3130370	5960072	80	66.67	80	60	0	0
43	78	62	2	3440189	5960072	85	66.67	80	60	0	0
44	78	77	2	5550711	6590484	90	66.67	80	60	0	0
45	78	29	2	2360672	4260767	75	100	80	40	0	0
46	78	45	2	3130370	4220731	75	66.67	80	40	0	0
47	78	55	2	3420136	5550711	70	83.33	80	40	0	0
48	78	59	2	3440189	4260767	75	100	80	40	0	0
49	78	8	2	770400	4260767	70	100	80	20	0	0

10

20

30

40

【0059】

(3) 3遺伝子による判別率

13遺伝子の中から3種類の遺伝子を選択する組み合わせは286種類であり、表10にその一部を示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ(40人)およびテストデータ(11人)で80%以上の判別率で予測できる3種類の遺伝子プローブセットは2360672/3440189/4220731(表10:1)のみであり、学習用データ(40人)を使った短命の判別率(ccvP0)は90%、テスト用データ(11人)を使った短命の判別率(ctcP0)は83.33%となった。

50

一方、学習用データを使った長命の判別率 (ccvP1) は90%、テスト用データを使った長命の判別率 (ctcP1) は80%であった。同様に、80%以上の判別率で長命を予測できるプローブセットは16種類 (表10: 2~17) が挙げられる。また、90%以上の判別率で短命を予測できるプローブセットは、以下の遺伝子プローブセット: 2030332/2370754/4260767、2030332/2370754/3440189、3440189/5080692/5550711、2360672/4220731/5550711、3440189/4220731/5550711、2370754/3440189/5550711、2370754/3440189/4220731、2370754/4220731/4260767、3420136/4220731/5550711、3420136/4220731/4260767、3130370/3420136/4220731が挙げられる。

【表10】

OBS	rep	index	pbnum	pb1	pb2	pb3	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	flg0	flg1
1	286	146	3	2360672	3440189	4220731	90	83.33	90	80	1	1
2	286	33	3	770400	3130370	4220731	75	66.67	90	80	0	1
3	286	65	3	770400	5550711	6590484	85	33.33	90	80	0	1
4	286	30	3	770400	2370754	6590484	85	66.67	85	80	0	1
5	286	46	3	770400	3440189	4220731	75	66.67	85	80	0	1
6	286	66	3	770400	5960072	6590484	80	33.33	85	80	0	1
7	286	130	3	2360672	2370754	6590484	80	66.67	85	80	0	1
8	286	162	3	2360672	5080692	5960072	85	50	85	80	0	1
9	286	165	3	2360672	5550711	6590484	85	66.67	85	80	0	1
10	286	166	3	2360672	5960072	6590484	90	50	85	80	0	1
11	286	20	3	770400	2360672	5960072	80	66.67	80	100	0	1
12	286	21	3	770400	2360672	6590484	75	16.67	80	100	0	1
13	286	63	3	770400	5080692	6590484	70	0	80	100	0	1
14	286	40	3	770400	3420136	4220731	80	66.67	80	80	0	1
15	286	53	3	770400	4220731	5080692	75	33.33	80	80	0	1
16	286	62	3	770400	5080692	5960072	80	50	80	80	0	1
17	286	138	3	2360672	3130370	6590484	90	50	80	80	0	1
18	286	78	3	2030332	2370754	3420136	85	83.33	100	60	1	0
19	286	96	3	2030332	3420136	4260767	90	83.33	100	60	1	0
20	286	234	3	3420136	3440189	5550711	85	83.33	100	60	1	0
21	286	274	3	4220731	5550711	5960072	90	83.33	100	40	1	0
22	286	81	3	2030332	2370754	4260767	95	100	100	20	1	0
23	286	36	3	770400	3130370	5550711	85	83.33	95	60	1	0
24	286	49	3	770400	3440189	5550711	95	83.33	95	60	1	0
25	286	77	3	2030332	2370754	3130370	90	83.33	95	60	1	0
26	286	84	3	2030332	2370754	5960072	95	83.33	95	60	1	0
27	286	113	3	2030332	4260767	5550711	80	100	95	40	1	0
28	286	143	3	2360672	3420136	5550711	80	83.33	95	40	1	0
29	286	191	3	2370754	4220731	5960072	90	83.33	95	40	1	0
30	286	249	3	3420136	5550711	5960072	85	83.33	95	40	1	0
31	286	243	3	3420136	4260767	5550711	80	100	95	20	1	0
32	286	269	3	4220731	4260767	5960072	90	83.33	95	20	1	0
33	286	7	3	770400	2030332	4260767	80	83.33	90	60	1	0
34	286	67	3	2030332	2360672	2370754	90	83.33	90	60	1	0
35	286	79	3	2030332	2370754	3440189	100	100	90	60	1	0
36	286	83	3	2030332	2370754	5550711	90	83.33	90	60	1	0
37	286	95	3	2030332	3420136	4220731	90	83.33	90	60	1	0
38	286	104	3	2030332	3440189	5550711	90	83.33	90	60	1	0
39	286	122	3	2360672	2370754	3130370	85	83.33	90	60	1	0
40	286	213	3	3130370	3440189	5550711	80	83.33	90	60	1	0
41	286	228	3	3130370	5550711	5960072	85	83.33	90	60	1	0
42	286	258	3	3440189	4260767	5550711	85	100	90	60	1	0
43	286	261	3	3440189	5080692	5550711	90	100	90	60	1	0
44	286	264	3	3440189	5550711	5960072	80	83.33	90	60	1	0
45	286	265	3	3440189	5550711	6590484	80	83.33	90	60	1	0
46	286	154	3	2360672	4220731	5550711	90	100	90	40	1	0
47	286	173	3	2370754	3130370	5960072	80	83.33	90	40	1	0
48	286	219	3	3130370	4220731	5960072	85	83.33	90	40	1	0
49	286	240	3	3420136	4220731	5960072	85	100	90	40	1	0

【0060】

10

20

30

40

50

(4) 4遺伝子による判別率

13遺伝子の中から4種類の遺伝子を選択する組み合わせは715種類あり、表11にその一部を示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ(40人)およびテストデータ(11人)で80%以上の判別率で予測できる4種類の遺伝子プローブセットは18種類[表11:1~18]が挙げられる。

【表11-1】

OBS	rep	index	pbnun	pb1	pb2	pb3	pb4	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	flg0	flg1
1	715	152	4	770400	3130370	4220731	5550711	85	100	95	80	1	1
2	715	188	4	770400	3440189	4220731	5550711	95	100	95	80	1	1
3	715	70	4	770400	2360672	3130370	5550711	90	83.33	90	80	1	1
4	715	88	4	770400	2360672	4220731	5550711	80	83.33	90	80	1	1
5	715	165	4	770400	3420136	3440189	4220731	90	100	90	80	1	1
6	715	420	4	2360672	2370754	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
7	715	437	4	2360672	3130370	4220731	5550711	90	100	90	80	1	1
8	715	473	4	2360672	3440189	4220731	5550711	90	100	90	80	1	1
9	715	494	4	2360672	4220731	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
10	715	59	4	770400	2360672	2370754	4220731	80	83.33	85	80	1	1
11	715	74	4	770400	2360672	3420136	4220731	90	83.33	85	80	1	1
12	715	83	4	770400	2360672	3440189	5550711	90	83.33	85	80	1	1
13	715	138	4	770400	3130370	3420136	4220731	90	83.33	85	80	1	1
14	715	215	4	770400	4260767	5550711	6590484	90	83.33	85	80	1	1
15	715	401	4	2360672	2370754	3440189	4220731	100	100	85	80	1	1
16	715	423	4	2360672	3130370	3420136	4220731	90	83.33	85	80	1	1
17	715	56	4	770400	2360672	2370754	3130370	80	100	80	80	1	1
18	715	457	4	2360672	3420136	4220731	5080692	90	83.33	80	80	1	1
19	715	205	4	770400	4220731	5080692	5550711	85	66.67	95	80	0	1
20	715	209	4	770400	4220731	5550711	6590484	80	66.67	95	80	0	1
21	715	64	4	770400	2360672	2370754	6590484	75	50	90	80	0	1
22	715	99	4	770400	2360672	5550711	6590484	85	33.33	90	80	0	1
23	715	135	4	770400	2370754	5550711	6590484	80	50	90	80	0	1
24	715	163	4	770400	3130370	5550711	6590484	90	66.67	90	80	0	1
25	715	184	4	770400	3420136	5550711	6590484	90	50	90	80	0	1
26	715	199	4	770400	3440189	5550711	6590484	90	66.67	90	80	0	1
27	715	100	4	770400	2360672	5960072	6590484	85	50	85	100	0	1
28	715	58	4	770400	2360672	2370754	3440189	75	83.33	85	80	0	1
29	715	80	4	770400	2360672	3440189	4220731	85	66.67	85	80	0	1
30	715	150	4	770400	3130370	4220731	4260767	75	100	85	80	0	1
31	715	151	4	770400	3130370	4220731	5080692	70	66.67	85	80	0	1
32	715	154	4	770400	3130370	4220731	6590484	75	66.67	85	80	0	1
33	715	190	4	770400	3440189	4220731	6590484	75	66.67	85	80	0	1
34	715	218	4	770400	5080692	5550711	6590484	85	33.33	85	80	0	1
35	715	418	4	2360672	2370754	5080692	6590484	85	50	85	80	0	1
36	715	429	4	2360672	3130370	3440189	4220731	90	66.67	85	80	0	1
37	715	436	4	2360672	3130370	4220731	5080692	85	66.67	85	80	0	1
38	715	472	4	2360672	3440189	4220731	5080692	90	66.67	85	80	0	1
39	715	490	4	2360672	4220731	5080692	5550711	85	66.67	85	80	0	1
40	715	85	4	770400	2360672	3440189	6590484	85	33.33	80	100	0	1
41	715	97	4	770400	2360672	5080692	6590484	85	33.33	80	100	0	1
42	715	65	4	770400	2360672	3130370	3420136	80	66.67	80	80	0	1
43	715	67	4	770400	2360672	3130370	4220731	75	66.67	80	80	0	1
44	715	73	4	770400	2360672	3420136	3440189	80	66.67	80	80	0	1
45	715	87	4	770400	2360672	4220731	5080692	75	66.67	80	80	0	1
46	715	90	4	770400	2360672	4220731	6590484	70	50	80	80	0	1
47	715	96	4	770400	2360672	5080692	5960072	85	50	80	80	0	1
48	715	133	4	770400	2370754	5080692	6590484	80	50	80	80	0	1
49	715	170	4	770400	3420136	3440189	6590484	95	50	80	80	0	1

【0061】

(5) 5遺伝子による判別率

13遺伝子の中から5種類の遺伝子を選択する組み合わせは1287種類あり、その一部を表12に示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ(40人)およびテストデータ(11人)で80%以上の判別率で予測できる5種類の遺伝子プローブセットは55種類(表12:1~55)が挙げられる。

【表 1 2 - 1】

OBS	rep	index	pbnun	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	flg0	flg1
1	1287	337	5	770400	2370754	3440189	4220731	5550711	95	100	95	80	1	1
2	1287	378	5	770400	3130370	3420136	4220731	5550711	85	83.33	95	80	1	1
3	1287	393	5	770400	3130370	3440189	4220731	5550711	90	100	95	80	1	1
4	1287	407	5	770400	3130370	4220731	4260767	5550711	85	100	95	80	1	1
5	1287	410	5	770400	3130370	4220731	5080692	5550711	85	83.33	95	80	1	1
6	1287	414	5	770400	3130370	4220731	5550711	6590484	85	100	95	80	1	1
7	1287	426	5	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	85	100	95	80	1	1
8	1287	428	5	770400	3420136	3440189	4220731	5550711	90	83.33	95	80	1	1
9	1287	469	5	770400	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
10	1287	171	5	770400	2360672	2370754	3130370	5550711	90	83.33	90	80	1	1
11	1287	186	5	770400	2360672	2370754	3440189	6590484	85	83.33	90	80	1	1
12	1287	189	5	770400	2360672	2370754	4220731	5550711	85	83.33	90	80	1	1
13	1287	191	5	770400	2360672	2370754	4220731	6590484	80	83.33	90	80	1	1
14	1287	212	5	770400	2360672	3130370	3440189	5550711	90	83.33	90	80	1	1
15	1287	217	5	770400	2360672	3130370	4220731	5550711	85	100	90	80	1	1
16	1287	218	5	770400	2360672	3130370	4220731	5960072	85	83.33	90	80	1	1
17	1287	224	5	770400	2360672	3130370	5080692	5550711	85	83.33	90	80	1	1
18	1287	228	5	770400	2360672	3130370	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
19	1287	253	5	770400	2360672	3440189	4220731	5550711	90	100	90	80	1	1
20	1287	267	5	770400	2360672	4220731	4260767	5550711	80	100	90	80	1	1
21	1287	280	5	770400	2360672	4260767	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
22	1287	465	5	770400	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	90	80	1	1
23	1287	485	5	770400	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
24	1287	898	5	2360672	2370754	4220731	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
25	1287	933	5	2360672	3130370	3440189	4220731	5550711	85	100	90	80	1	1
26	1287	950	5	2360672	3130370	4220731	5080692	5550711	90	83.33	90	80	1	1
27	1287	1002	5	2360672	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	90	80	1	1
28	1287	1009	5	2360672	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
29	1287	168	5	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	90	100	85	80	1	1
30	1287	175	5	770400	2360672	2370754	3420136	4220731	85	83.33	85	80	1	1
31	1287	206	5	770400	2360672	3130370	3420136	5550711	85	83.33	85	80	1	1
32	1287	251	5	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	80	83.33	85	80	1	1
33	1287	254	5	770400	2360672	3440189	4220731	5960072	85	83.33	85	80	1	1
34	1287	255	5	770400	2360672	3440189	4220731	6590484	80	83.33	85	80	1	1
35	1287	257	5	770400	2360672	3440189	4260767	5550711	90	83.33	85	80	1	1
36	1287	314	5	770400	2370754	3420136	3440189	4220731	100	100	85	80	1	1
37	1287	427	5	770400	3420136	3440189	4220731	5080692	90	83.33	85	80	1	1
38	1287	430	5	770400	3420136	3440189	4220731	6590484	80	100	85	80	1	1
39	1287	864	5	2360672	2370754	3420136	4220731	6590484	80	100	85	80	1	1
40	1287	954	5	2360672	3130370	4220731	5550711	6590484	85	100	85	80	1	1
41	1287	181	5	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	100	100	80	80	1	1
42	1287	203	5	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	85	83.33	80	80	1	1
43	1287	230	5	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	90	83.33	80	80	1	1
44	1287	237	5	770400	2360672	3420136	4220731	5080692	90	83.33	80	80	1	1
45	1287	259	5	770400	2360672	3440189	4260767	6590484	85	83.33	80	80	1	1
46	1287	278	5	770400	2360672	4260767	5080692	6590484	80	83.33	80	80	1	1
47	1287	287	5	770400	2370754	3130370	3420136	4220731	90	83.33	80	80	1	1
48	1287	336	5	770400	2370754	3440189	4220731	5080692	95	100	80	80	1	1
49	1287	370	5	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	90	100	80	80	1	1

10

20

30

【表 1 2 - 2】

50	1287	377	5	770400	3130370	3420136	4220731	5080692	85	83.33	80	80	1	1
51	1287	380	5	770400	3130370	3420136	4220731	6590484	90	83.33	80	80	1	1
52	1287	861	5	2360672	2370754	3420136	4220731	5080692	85	83.33	80	80	1	1
53	1287	910	5	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	95	100	80	80	1	1
54	1287	970	5	2360672	3420136	3440189	4220731	6590484	90	100	80	80	1	1
55	1287	987	5	2360672	3420136	4220731	5080692	6590484	90	83.33	80	80	1	1
56	1287	462	5	770400	3440189	4220731	4260767	5550711	95	66.67	95	80	0	1
57	1287	200	5	770400	2360672	2370754	5550711	6590484	80	50	90	80	0	1
58	1287	249	5	770400	2360672	3420136	5550711	6590484	85	66.67	90	80	0	1
59	1287	250	5	770400	2360672	3420136	5960072	6590484	85	50	90	80	0	1
60	1287	264	5	770400	2360672	3440189	5550711	6590484	90	66.67	90	80	0	1
61	1287	270	5	770400	2360672	4220731	5080692	5550711	75	66.67	90	80	0	1
62	1287	274	5	770400	2360672	4220731	5550711	6590484	80	66.67	90	80	0	1
63	1287	367	5	770400	2370754	5080692	5550711	6590484	80	50	90	80	0	1
64	1287	449	5	770400	3420136	4220731	5550711	6590484	85	66.67	90	80	0	1
65	1287	488	5	770400	4220731	5080692	5550711	6590484	85	50	90	80	0	1
66	1287	180	5	770400	2360672	2370754	3420136	6590484	85	50	85	80	0	1
67	1287	198	5	770400	2360672	2370754	5080692	6590484	75	50	85	80	0	1
68	1287	215	5	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	75	83.33	85	80	0	1
69	1287	216	5	770400	2360672	3130370	4220731	5080692	80	66.67	85	80	0	1
70	1287	219	5	770400	2360672	3130370	4220731	6590484	75	66.67	85	80	0	1
71	1287	283	5	770400	2360672	5080692	5550711	6590484	80	33.33	85	80	0	1
72	1287	284	5	770400	2360672	5080692	5960072	6590484	85	50	85	80	0	1
73	1287	412	5	770400	3130370	4220731	5080692	6590484	65	66.67	85	80	0	1
74	1287	932	5	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	90	66.67	85	80	0	1
75	1287	265	5	770400	2360672	3440189	5960072	6590484	85	50	80	100	0	1
76	1287	170	5	770400	2360672	2370754	3130370	5080692	75	83.33	80	80	0	1
77	1287	173	5	770400	2360672	2370754	3130370	6590484	85	66.67	80	80	0	1
78	1287	188	5	770400	2360672	2370754	4220731	5080692	80	66.67	80	80	0	1
79	1287	205	5	770400	2360672	3130370	3420136	5080692	80	66.67	80	80	0	1
80	1287	208	5	770400	2360672	3130370	3420136	6590484	80	50	80	80	0	1
81	1287	211	5	770400	2360672	3130370	3440189	5080692	85	50	80	80	0	1
82	1287	235	5	770400	2360672	3420136	3440189	6590484	90	50	80	80	0	1
83	1287	252	5	770400	2360672	3440189	4220731	5080692	80	66.67	80	80	0	1
84	1287	272	5	770400	2360672	4220731	5080692	6590484	75	50	80	80	0	1
85	1287	391	5	770400	3130370	3440189	4220731	4260767	75	83.33	80	80	0	1
86	1287	406	5	770400	3130370	4220731	4260767	5080692	70	66.67	80	80	0	1
87	1287	409	5	770400	3130370	4220731	4260767	6590484	75	100	80	80	0	1
88	1287	464	5	770400	3440189	4220731	4260767	6590484	75	100	80	80	0	1
89	1287	483	5	770400	4220731	4260767	5080692	6590484	70	83.33	80	80	0	1
90	1287	896	5	2360672	2370754	4220731	5080692	6590484	85	66.67	80	80	0	1
91	1287	1001	5	2360672	3440189	4220731	4260767	5080692	80	66.67	80	80	0	1
92	1287	1007	5	2360672	3440189	4220731	5080692	6590484	80	66.67	80	80	0	1
93	1287	1028	5	2360672	4220731	5080692	5550711	6590484	85	66.67	80	80	0	1
94	1287	4	5	770400	2030332	2360672	2370754	4220731	95	83.33	100	60	1	0
95	1287	5	5	770400	2030332	2360672	2370754	4260767	90	100	100	60	1	0
96	1287	46	5	770400	2030332	2370754	3130370	3420136	90	83.33	100	60	1	0
97	1287	49	5	770400	2030332	2370754	3130370	4260767	90	100	100	60	1	0
98	1287	55	5	770400	2030332	2370754	3420136	4220731	95	83.33	100	60	1	0
99	1287	62	5	770400	2030332	2370754	3440189	4260767	90	100	100	60	1	0

10

20

30

【 0 0 6 2 】

(6) 6遺伝子による判別率

13遺伝子の中から6種類の遺伝子を選択する組み合わせは1716種類あり、その一部を表 1 3 に示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ (40人) およびテストデータ (11人) で80%以上の判別率で予測できる6種類の遺伝子プロープセットは71種類 (表 1 3 : 1~71) が挙げられる。

【表 1 3 - 1】

OBS	rep	index	pbnum	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	ccvP0	etcP0	ccvP1	etcP1	flq0	flq1
1	1716	473	6	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5550711	90	83.33	95	80	1	1
2	1716	510	6	770400	2360672	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	95	80	1	1
3	1716	549	6	770400	2370754	3130370	3420136	4220731	5550711	85	83.33	95	80	1	1
4	1716	564	6	770400	2370754	3130370	3440189	4220731	5550711	90	100	95	80	1	1
5	1716	599	6	770400	2370754	3420136	3440189	4220731	5550711	90	100	95	80	1	1
6	1716	633	6	770400	2370754	3440189	4220731	4260767	5550711	95	100	95	80	1	1
7	1716	669	6	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	90	83.33	95	80	1	1
8	1716	683	6	770400	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	85	83.33	95	80	1	1
9	1716	686	6	770400	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	85	83.33	95	80	1	1
10	1716	690	6	770400	3130370	3420136	4220731	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
11	1716	710	6	770400	3130370	3440189	4220731	5550711	6590484	85	100	95	80	1	1
12	1716	726	6	770400	3130370	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	95	80	1	1
13	1716	745	6	770400	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
14	1716	776	6	770400	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
15	1716	346	6	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	5550711	85	83.33	90	80	1	1
16	1716	382	6	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	5550711	95	100	90	80	1	1
17	1716	393	6	770400	2360672	2370754	3440189	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
18	1716	399	6	770400	2360672	2370754	4220731	5080692	5550711	80	83.33	90	80	1	1
19	1716	403	6	770400	2360672	2370754	4220731	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
20	1716	423	6	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	5550711	85	83.33	90	80	1	1
21	1716	438	6	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5550711	85	100	90	80	1	1
22	1716	449	6	770400	2360672	3130370	3440189	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
23	1716	452	6	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5550711	85	100	90	80	1	1
24	1716	459	6	770400	2360672	3130370	4220731	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
25	1716	465	6	770400	2360672	3130370	4260767	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
26	1716	514	6	770400	2360672	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
27	1716	520	6	770400	2360672	3440189	4260767	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
28	1716	530	6	770400	2360672	4220731	4260767	5550711	6590484	80	83.33	90	80	1	1
29	1716	581	6	770400	2370754	3130370	4220731	5080692	5550711	90	83.33	90	80	1	1
30	1716	659	6	770400	2370754	4220731	5080692	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
31	1716	706	6	770400	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	90	80	1	1
32	1716	722	6	770400	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	85	100	90	80	1	1
33	1716	740	6	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	6590484	80	100	90	80	1	1
34	1716	761	6	770400	3420136	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1
35	1716	779	6	770400	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
36	1716	1424	6	2360672	3130370	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
37	1716	1443	6	2360672	3130370	4220731	5080692	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
38	1716	1490	6	2360672	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
39	1716	332	6	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	85	100	85	80	1	1
40	1716	348	6	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	6590484	85	100	85	80	1	1
41	1716	359	6	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	95	100	85	80	1	1
42	1716	369	6	770400	2360672	2370754	3420136	4220731	6590484	80	83.33	85	80	1	1
43	1716	434	6	770400	2360672	3130370	3420136	5550711	6590484	90	83.33	85	80	1	1
44	1716	439	6	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5960072	80	83.33	85	80	1	1
45	1716	455	6	770400	2360672	3130370	4220731	5080692	5550711	80	83.33	85	80	1	1
46	1716	474	6	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5960072	95	83.33	85	80	1	1
47	1716	528	6	770400	2360672	4220731	4260767	5080692	6590484	80	83.33	85	80	1	1
48	1716	541	6	770400	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	100	100	85	80	1	1
49	1716	668	6	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	90	83.33	85	80	1	1

10

20

30

【表 1 3 - 2】

50	1716	729	6	770400	3130370	4220731	5080692	5550711	6590484	85	83.33	85	80	1	1
51	1716	737	6	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	85	83.33	85	80	1	1
52	1716	743	6	770400	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	85	83.33	85	80	1	1
53	1716	1373	6	2360672	2370754	4220731	5080692	5550711	6590484	85	83.33	85	80	1	1
54	1716	1402	6	2360672	3130370	3420136	4220731	5080692	6590484	90	83.33	85	80	1	1
55	1716	337	6	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	6590484	85	83.33	80	80	1	1
56	1716	338	6	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	95	100	80	80	1	1
57	1716	343	6	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	6590484	85	83.33	80	80	1	1
58	1716	421	6	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	80	100	80	80	1	1
59	1716	422	6	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	5080692	85	83.33	80	80	1	1
60	1716	425	6	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	6590484	80	83.33	80	80	1	1
61	1716	463	6	770400	2360672	3130370	4260767	5080692	6590484	80	83.33	80	80	1	1
62	1716	471	6	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	90	100	80	80	1	1
63	1716	472	6	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5080692	90	83.33	80	80	1	1
64	1716	475	6	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	6590484	85	100	80	80	1	1
65	1716	485	6	770400	2360672	3420136	3440189	5960072	6590484	85	83.33	80	80	1	1
66	1716	486	6	770400	2360672	3420136	4220731	4260767	5080692	85	83.33	80	80	1	1
67	1716	489	6	770400	2360672	3420136	4220731	4260767	6590484	80	100	80	80	1	1
68	1716	618	6	770400	2370754	3420136	4220731	5080692	6590484	95	83.33	80	80	1	1
69	1716	667	6	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	85	100	80	80	1	1
70	1716	671	6	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	6590484	85	100	80	80	1	1
71	1716	1332	6	2360672	2370754	3420136	4220731	5080692	6590484	85	83.33	80	80	1	1
72	1716	412	6	770400	2360672	2370754	5080692	5550711	6590484	75	33.33	95	80	0	1
73	1716	503	6	770400	2360672	3420136	5080692	5550711	6590484	85	33.33	95	80	0	1
74	1716	537	6	770400	2360672	4260767	5080692	5550711	6590484	85	66.67	95	80	0	1
75	1716	703	6	770400	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	95	80	0	1
76	1716	738	6	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	95	80	0	1
77	1716	357	6	770400	2360672	2370754	3130370	5550711	6590484	90	66.67	90	80	0	1
78	1716	378	6	770400	2360672	2370754	3420136	5550711	6590484	85	50	90	80	0	1
79	1716	507	6	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	90	80	0	1
80	1716	526	6	770400	2360672	4220731	4260767	5080692	5550711	75	83.33	90	80	0	1
81	1716	533	6	770400	2360672	4220731	5080692	5550711	6590484	75	50	90	80	0	1
82	1716	620	6	770400	2370754	3420136	4220731	5550711	6590484	85	66.67	90	80	0	1
83	1716	764	6	770400	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	85	66.67	90	80	0	1
84	1716	772	6	770400	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	66.67	90	80	0	1
85	1716	788	6	770400	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	85	66.67	90	80	0	1
86	1716	345	6	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	5080692	90	66.67	85	80	0	1
87	1716	420	6	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	6590484	85	50	85	80	0	1
88	1716	432	6	770400	2360672	3130370	3420136	5080692	6590484	80	50	85	80	0	1
89	1716	451	6	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5080692	75	66.67	85	80	0	1
90	1716	457	6	770400	2360672	3130370	4220731	5080692	6590484	80	66.67	85	80	0	1
91	1716	468	6	770400	2360672	3130370	5080692	5550711	6590484	90	50	85	80	0	1
92	1716	509	6	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	6590484	75	83.33	85	80	0	1
93	1716	1422	6	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	6590484	90	66.67	85	80	0	1
94	1716	355	6	770400	2360672	2370754	3130370	5080692	6590484	90	50	80	80	0	1
95	1716	366	6	770400	2360672	2370754	3420136	4220731	5080692	85	66.67	80	80	0	1
96	1716	376	6	770400	2360672	2370754	3420136	5080692	6590484	90	33.33	80	80	0	1
97	1716	401	6	770400	2360672	2370754	4220731	5080692	6590484	80	66.67	80	80	0	1
98	1716	437	6	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	75	66.67	80	80	0	1
99	1716	440	6	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	6590484	80	66.67	80	80	0	1

10

20

30

【 0 0 6 3 】

(7) 7 遺伝子による判別率

13 遺伝子の中から 7 種類の遺伝子を選択する組み合わせは 1715 種類あり、その一部を表 1 3 に示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ (40 人) およびテストデータ (11 人) で 80% 以上の判別率で予測できる 7 種類の遺伝子プローブセットは 63 種類 [表 1 4 : 1 ~ 63] である。

【表 1 4 - 1】

OBS	rep	index	pbnnum	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	cvcP0	ctcP0	cvcP1	ctcP1	flg0	flg1
1	1716	521	7	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	5550711	90	100	95	80	1	1
2	1716	558	7	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	95	80	1	1
3	1716	574	7	770400	2360672	2370754	4220731	4260767	5080692	5550711	85	100	95	80	1	1
4	1716	663	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	90	100	95	80	1	1
5	1716	667	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
6	1716	701	7	770400	2360672	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
7	1716	717	7	770400	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	90	100	95	80	1	1
8	1716	738	7	770400	2370754	3130370	3420136	4220731	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
9	1716	751	7	770400	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	95	80	1	1
10	1716	786	7	770400	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	95	80	1	1
11	1716	849	7	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
12	1716	865	7	770400	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
13	1716	868	7	770400	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
14	1716	880	7	770400	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	95	80	1	1
15	1716	471	7	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	5550711	85	100	90	80	1	1
16	1716	486	7	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	5550711	90	100	90	80	1	1
17	1716	500	7	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	4260767	5550711	85	100	90	80	1	1
18	1716	507	7	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
19	1716	555	7	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	4260767	5550711	95	100	90	80	1	1
20	1716	562	7	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	5550711	6590484	95	100	90	80	1	1
21	1716	578	7	770400	2360672	2370754	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
22	1716	581	7	770400	2360672	2370754	4220731	5080692	5550711	6590484	80	83.33	90	80	1	1
23	1716	591	7	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	90	83.33	90	80	1	1
24	1716	605	7	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	85	100	90	80	1	1
25	1716	612	7	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1	1

10

20

30

【表 1 4 - 2】

26	1716	625	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	85	83.33	90	80	1
27	1716	628	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	90	80	1
28	1716	632	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5550711	6590484	85	100	90	80	1
29	1716	638	7	770400	2360672	3130370	3440189	4260767	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1
30	1716	648	7	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	90	80	1
31	1716	694	7	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	90	80	1
32	1716	698	7	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1
33	1716	710	7	770400	2360672	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	80	83.33	90	80	1
34	1716	812	7	770400	2370754	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1
35	1716	883	7	770400	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	90	80	1
36	1716	913	7	770400	3420136	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1
37	1716	919	7	770400	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	95	83.33	90	80	1
38	1716	1552	7	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	90	80	1
39	1716	463	7	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	90	100	85	80	1
40	1716	470	7	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	5080692	85	100	85	80	1
41	1716	473	7	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	6590484	85	100	85	80	1
42	1716	503	7	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	5080692	5550711	85	83.33	85	80	1
43	1716	505	7	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	5080692	6590484	85	100	85	80	1
44	1716	523	7	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	6590484	95	100	85	80	1
45	1716	604	7	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	5080692	80	83.33	85	80	1
46	1716	608	7	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	80	83.33	85	80	1
47	1716	621	7	770400	2360672	3130370	3420136	5080692	5550711	6590484	85	83.33	85	80	1
48	1716	644	7	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	85	100	85	80	1
49	1716	651	7	770400	2360672	3130370	4220731	5080692	5550711	6590484	80	83.33	85	80	1

10

20

30

40

【表 1 4 - 3】

50	1716	659	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	85	83.33	85	80	1
51	1716	820	7	770400	2370754	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	85	80	1
52	1716	847	7	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	85	83.33	85	80	1
53	1716	892	7	770400	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	85	100	85	80	1
54	1716	899	7	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	80	83.33	85	80	1
55	1716	520	7	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	5080692	90	100	80	80	1
56	1716	560	7	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	5080692	6590484	95	100	80	80	1
57	1716	589	7	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	90	100	80	80	1
58	1716	590	7	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	90	83.33	80	80	1
59	1716	607	7	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	6590484	80	100	80	80	1
60	1716	627	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	6590484	80	100	80	80	1
61	1716	662	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	6590484	90	100	80	80	1
62	1716	665	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	80	83.33	80	80	1
63	1716	681	7	770400	2360672	3420136	4220731	4260767	5080692	6590484	85	83.33	80	80	1
64	1716	551	7	770400	2360672	2370754	3420136	5080692	5550711	6590484	80	50	95	80	1
65	1716	660	7	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	95	80	1
66	1716	842	7	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	95	80	1
67	1716	901	7	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	66.67	95	80	1
68	1716	686	7	770400	2360672	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	80	66.67	90	80	1
69	1716	876	7	770400	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	66.67	90	80	1
70	1716	897	7	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	90	66.67	90	80	1
71	1716	516	7	770400	2360672	2370754	3130370	5080692	5550711	6590484	90	66.67	85	80	1
72	1716	646	7	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5080692	6590484	75	83.33	85	80	1
73	1716	540	7	770400	2360672	2370754	3420136	4220731	5080692	6590484	85	66.67	80	80	1
74	1716	624	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	75	66.67	80	80	1
75	1716	630	7	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	6590484	80	66.67	80	80	1

10

20

30

40

【 0 0 6 4】

(8) 8遺伝子による判別率

13遺伝子の中から8種類の遺伝子を選択する組み合わせは1287種類あり、表 1 5 にその一部を示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ (40人) およびテストデータ (11人) で80%以上の判別率で予測できる8種類の遺伝子プローブセットは45種類 (表 1 5 : 1 ~ 45) が挙げられる。

【表 15 - 1】

OBS	rep	index	pbnum	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	pb8	ccvP0	ctcfP0	ccvP1	ctcfP1	fig0	fig1
1	1287	534	8	770400	2360672	2570754	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	95	80	1	1
2	1287	541	8	770400	2360672	2570754	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
3	1287	568	8	770400	2360672	2570754	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	95	80	1	1
4	1287	575	8	770400	2360672	2570754	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	95	100	95	80	1	1
5	1287	584	8	770400	2360672	2570754	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	85	100	95	80	1	1
6	1287	593	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	90	100	95	80	1	1
7	1287	597	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
8	1287	649	8	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	83.33	95	80	1	1
9	1287	652	8	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
10	1287	674	8	770400	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	95	80	1	1
11	1287	733	8	770400	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
12	1287	761	8	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	83.33	95	80	1	1
13	1287	786	8	770400	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	95	80	1	1
14	1287	465	8	770400	2360672	2570754	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	85	100	90	80	1	1
15	1287	467	8	770400	2360672	2570754	3130370	3420136	3440189	4220731	6590484	90	100	90	80	1	1
16	1287	479	8	770400	2360672	2570754	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	85	100	90	80	1	1
17	1287	482	8	770400	2360672	2570754	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	80	100	90	80	1	1
18	1287	486	8	770400	2360672	2570754	3130370	3420136	4220731	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
19	1287	499	8	770400	2360672	2570754	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	90	100	90	80	1	1
20	1287	502	8	770400	2360672	2570754	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	90	80	1	1
21	1287	506	8	770400	2360672	2570754	3130370	3440189	4220731	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
22	1287	522	8	770400	2360672	2570754	3130370	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
23	1287	525	8	770400	2360672	2570754	3130370	4220731	5080692	5550711	6590484	80	83.33	90	80	1	1
24	1287	539	8	770400	2360672	2570754	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	90	100	90	80	1	1
25	1287	572	8	770400	2360672	2570754	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	95	100	90	80	1	1

10

20

30

40

【表 15 - 2】

26	1287	613	8	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	90	80	1
27	1287	624	8	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	90	80	1
28	1287	628	8	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	85	83.33	90	80	1
29	1287	631	8	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	90	80	1
30	1287	667	8	770400	2360672	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1
31	1287	779	8	770400	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	95	83.33	90	80	1
32	1287	464	8	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	90	100	85	80	1
33	1287	518	8	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	80	100	85	80	1
34	1287	570	8	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	90	100	85	80	1
35	1287	609	8	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	5080692	5550711	80	100	85	80	1
36	1287	616	8	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	80	100	85	80	1
37	1287	640	8	770400	2360672	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	80	100	85	80	1
38	1287	647	8	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	85	83.33	85	80	1
39	1287	708	8	770400	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	85	80	1
40	1287	751	8	770400	2370754	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	95	83.33	85	80	1
41	1287	484	8	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	5080692	6590484	85	100	80	80	1
42	1287	589	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	85	83.33	80	80	1
43	1287	592	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	6590484	90	100	80	80	1
44	1287	595	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	85	83.33	80	80	1
45	1287	759	8	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	85	100	80	80	1
46	1287	645	8	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	90	66.67	95	80	0
47	1287	590	8	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	90	66.67	90	80	0
48	1287	757	8	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	66.67	90	80	0
49	1287	7	8	770400	2030332	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	4260767	90	100	100	60	1

10

20

30

40

【 0 0 6 5 】

(9) 9遺伝子による判別率

13遺伝子の中から9種類の遺伝子を選択する組み合わせは715種類あり、その一部を表16に示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ（40人）およびテストデータ（11人）で80%以上の判別率で予測できる9種類の遺伝子プローブセットは22種類（表16：1～22）が挙げられる。

【表 16】

OBS	rep	index	pbnun	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	pb8	pb9	ccvP0	ctcP0	ccvP1	ctcP1	fig0	fig1
1	715	389	9	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
2	715	387	9	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	90	83.33	95	80	1	1
3	715	391	9	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
4	715	419	9	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	83.33	95	80	1	1
5	715	444	9	770400	2360672	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	95	80	1	1
6	715	455	9	770400	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	90	100	95	80	1	1
7	715	382	9	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	85	100	90	80	1	1
8	715	355	9	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
9	715	358	9	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	5080692	5550711	6590484	80	100	90	80	1	1
10	715	366	9	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	95	83.33	90	80	1	1
11	715	370	9	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5550711	6590484	85	100	90	80	1	1
12	715	373	9	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	95	100	90	80	1	1
13	715	382	9	770400	2360672	2370754	3130370	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	80	100	90	80	1	1
14	715	408	9	770400	2360672	2370754	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	95	83.33	90	80	1	1
15	715	422	9	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	6590484	90	100	90	80	1	1
16	715	437	9	770400	2360672	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
17	715	480	9	770400	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
18	715	488	9	770400	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	90	83.33	90	80	1	1
19	715	387	9	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	6590484	90	100	85	80	1	1
20	715	431	9	770400	2360672	3130370	3420136	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	80	100	85	80	1	1
21	715	473	9	770400	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	6590484	95	83.33	85	80	1	1
22	715	417	9	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	85	83.33	80	80	1	1
23	715	415	9	770400	2660672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	6590484	90	66.67	95	80	0	1
24	715	7	9	770400	2030332	2360672	2870754	3130370	3420136	3440189	4260767	5550711	90	100	100	80	1	0
25	715	10	9	770400	2030332	2360672	2870754	3130370	3420136	3440189	5080692	5550711	95	100	100	80	1	0

10

20

30

40

【 0 0 6 6 】

(1 0) 10遺伝子による判別率

13遺伝子の中から10種類の遺伝子を選択する組み合わせは286種類あり、その一部を表17に示す。例えば、長命・短命の判別に関して学習データ（40人）およびテストデータ（11人）で80%以上の判別率で予測できる10種類の遺伝子プローブセットは7種類（表17：1~7）が挙げられる。

【表 17】

CBS	rep	index	pbnum	pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	pb8	pb9	pb10	ccvF0	ctcF0	ccvP1	ctcP1	fig0	fig1
1	286	166	10	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	90	83.33	95	80	1	1
2	286	170	10	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	90	100	95	80	1	1
3	286	195	10	770400	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	5550484	90	83.33	95	80	1	1
4	286	182	10	770400	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	4260767	5080692	5550711	5550484	80	100	90	80	1	1
5	286	203	10	770400	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	5550484	90	83.33	90	80	1	1
6	286	212	10	770400	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	5550484	90	83.33	90	80	1	1
7	286	188	10	770400	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5550711	5550484	95	83.33	85	80	1	1
8	286	5	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	95	100	100	60	1	0
9	286	11	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	85	100	100	60	1	0
10	286	14	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4260767	5550711	5960072	95	100	100	60	1	0
11	286	15	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	4260767	5550711	5960072	90	83.33	100	60	1	0
12	286	17	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	3440189	5080692	5550711	5960072	95	83.33	100	60	1	0
13	286	22	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	4220731	4260767	5080692	5960072	95	83.33	100	60	1	0
14	286	31	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3420136	4260767	5080692	5550711	5960072	95	100	100	60	1	0
15	286	37	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	4260767	5080692	5960072	95	83.33	100	60	1	0
16	286	42	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3440189	4220731	5080692	5550711	5960072	100	100	100	60	1	0
17	286	46	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3440189	4260767	5080692	5550711	5960072	95	100	100	60	1	0
18	286	49	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	3440189	4260767	5550711	5960072	5960072	100	83.33	100	60	1	0
19	286	56	10	770400	2090382	2360672	2370754	3130370	4260767	5080692	5550711	5960072	5960072	100	83.33	100	60	1	0
20	286	63	10	770400	2090382	2360672	2370754	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	5960072	100	100	100	60	1	0
21	286	67	10	770400	2090382	2360672	2370754	3420136	3440189	4260767	5080692	5550711	5960072	95	100	100	60	1	0
22	286	71	10	770400	2090382	2360672	2370754	3420136	3440189	5080692	5550711	5960072	5960072	100	83.33	100	60	1	0
23	286	91	10	770400	2090382	2360672	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	5960072	100	83.33	100	60	1	0
24	286	124	10	770400	2090382	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	4260767	5550711	5960072	100	83.33	100	60	1	0
25	286	127	10	770400	2090382	2370754	3130370	3420136	3440189	4220731	5080692	5550711	5960072	100	100	100	60	1	0

10

20

30

40

【 0 0 6 7 】

(1 1) 11遺伝子による判別率

13遺伝子の中から11種類の遺伝子を選択する組み合わせは78種類あり、例えば、長命・短命の判別に関して学習データ（40人）およびテストデータ（11人）で80%以上の判別率で予測できる11種類の遺伝子プローブセットは1種類 [770400/2360672/2370754/3130

50

370/3420136/3440189/4220731/4260767/5080692/5550711/6590484が挙げられる。

【 0 0 6 8 】

上記と同様にして、13遺伝子の中から12または13種類の遺伝子を選択する組み合わせを検討した。長命・短命の判別に関して学習データ（40人）およびテストデータ（11人）で80%以上の判別率で予測できる遺伝子プロブセットは見いだされなかった。

【 0 0 6 9 】

（ 1 4 ）判別に優位な遺伝子の選択

上記のように13遺伝子の中から1種類、2種類・・・、13種類を用いた場合に判別率が良い遺伝子（判別率80%以上となった遺伝子セットに用いられる頻度が高い遺伝子）が4種類選択された（プロブID：770400, 2360672, 4220731, 5550711）。表18および図5は、flg0 と flg1 がともに 1（学習用データとテスト用データで判別率が80%以上）となるプロブの組み合わせから得られるプロブの出現頻度を示す。これら4種類の遺伝子が入った組み合わせでは、予後予測可能率が高かった。

【表18】

OBS	Probe_ID	Symbol	Accession	frequency
1	770400	LOC653600	XM_928349.1	257
2	2030332	PTPN18	NM_014369.2	0
3	2360672	TNFRSF19	NM_148957.2	203
4	2370754	G3BP2	NM_012297.3	112
5	3130370	ZNF83	NM_018300.2	157
6	3420136	C6orf222	NM_001010903.3	140
7	3440189	ZBTB20	NM_015642.3	161
8	4220731	P4HA1	NM_000917.2	257
9	4260767	GP1BA	NM_000173.4	112
10	5080692	HLA-A29.1	NM_001080840.1	115
11	5550711	SYNE1	NM_182961.2	186
12	5960072		BY797688	5
13	6590484	NAP1L1	NM_139207.1	151

【 0 0 7 0 】

実施例 2

1：免疫関連遺伝子の選択

16968遺伝子の中から免疫関連遺伝子748遺伝子に焦点を当て、実施例1と同様に短命群と長命群においてt検定を行った。その結果、p値が小さい（有意差が大きい）ものから上位100番目までを候補遺伝子とした（表19）。前記100遺伝子の発現レベル（蛍光リーダー測定値）は、表19の「0」（短命群）および「1」（長命群）のカラムに示す。

【表 19 - 1】

OBS	ProbedID	Symbol	Accession	_0	_1	_diff01	Method	Variances	tValue	DF	Probt	P_KW	fig1	fig2	fig3	FC	_jprval_t	_jprval_w
1	4830255	DPP4	NM_001935.3	6.8716	7.179	-0.3074	Pooled	Equal	-4.52	38	<.0001	0.00019	1	1	2	-0.3074	4.23172	3.7229
2	1110091	ITAI1	NM_001033925.1	7.6534	7.873	-0.2339	Pooled	Equal	-3.9	38	0.0004	0.00141	1	1	2	-0.2339	3.42496	2.84975
3	6940433	STAT5B	NM_012448.3	8.5812	8.8213	-0.2402	Pooled	Equal	-3.67	38	0.0007	0.00088	1	1	2	-0.24015	3.12747	3.05662
4	2640025	HP	NM_005143.2	7.3689	6.621	0.4088	Pooled	Equal	3.6	38	0.0009	0.00187	1	1	2	0.40882	3.03732	2.72907
5	3520601	MPO	NM_000250.1	8.129	7.1635	0.9655	Pooled	Equal	3.39	38	0.0016	0.0008	1	1	2	0.96555	2.7846	3.09113
6	6550600	MYC	NM_002467.3	7.5767	7.914	-0.3374	Pooled	Equal	-3.37	38	0.0017	0.00048	1	1	2	-0.33736	2.75912	3.31516
7	3610735	F12	NM_000505.3	6.8105	6.7151	0.0954	Pooled	Equal	3.09	38	0.0037	0.00245	1	1	2	0.09539	2.43139	2.61106
8	5900100	BCR	NM_021574.2	6.6621	6.5878	0.0743	Pooled	Equal	3.07	38	0.004	0.00204	1	1	2	0.07433	2.4012	2.68944
9	3130669	SATB1	NM_002871.2	7.0787	7.2949	-0.2162	Pooled	Equal	-3.05	38	0.0041	0.00803	1	1	2	-0.21617	2.38317	2.08542
10	1500735	CTSG	NM_001911.2	8.781	7.263	1.2547	Pooled	Equal	3	38	0.0048	0.00869	1	1	2	1.25466	2.3209	2.06078
11	5420095	MYC	NM_002467.3	8.2483	8.6315	-0.3832	Pooled	Equal	-2.91	38	0.0061	0.00451	1	1	2	-0.38321	2.21614	2.34605
12	5670739	AZU1	NM_001700.3	7.3525	6.7459	0.6066	Pooled	Equal	2.89	38	0.0063	0.00741	1	1	2	0.60663	2.20215	2.13034
13	10358	SPN	NM_001030288.1	8.4201	8.0743	0.3457	Pooled	Equal	2.86	38	0.0069	0.00803	1	1	2	0.34574	2.16135	2.09542
14	770021	PRKRA	NM_003690.3	8.4218	8.6512	-0.2294	Pooled	Equal	-2.82	38	0.0075	0.00803	1	1	2	-0.22936	2.12341	2.09542
15	2940767	CEBPE	NM_001805.2	6.7703	6.625	0.1453	Pooled	Equal	2.78	38	0.0084	0.00224	1	1	2	0.14529	2.0756	2.65011
16	4250577	HSPD1	NM_002156.4	6.5931	6.5666	0.0265	Pooled	Equal	2.76	38	0.0088	0.02655	1	1	2	0.02655	2.05747	1.57588
17	940356	IL15RA	NM_002188.2	6.8246	6.7111	0.1135	Pooled	Equal	2.76	38	0.0088	0.0186	1	1	2	0.1135	2.05897	1.73038
18	6250615	PGLYRP1	NM_005091.1	8.0051	7.3418	0.6634	Pooled	Equal	2.76	38	0.0088	0.01018	1	1	2	0.66337	2.05532	1.99238
19	4390398	LCN2	NM_005564.3	9.4014	8.4624	0.9391	Pooled	Equal	2.61	38	0.0089	0.02476	1	1	2	0.93905	2.04895	1.90628
20	5490403	CD1E	NM_001042586.1	8.8164	8.9676	-0.1512	Pooled	Equal	-2.73	38	0.0094	0.01018	1	1	2	-0.15121	2.02472	1.99238
21	6900634	CD69	NM_001781.1	8.5701	9.0537	-0.4836	Pooled	Equal	-2.65	38	0.0117	0.011	1	1	2	-0.48356	1.93088	1.95862
22	6400176	IRF7	NM_004029.2	9.7006	9.3688	0.3348	Pooled	Equal	2.64	38	0.0119	0.02149	1	1	2	0.3348	1.92745	1.66776
23	2030767	CD48	NM_001778.2	11.9662	12.2108	-0.2446	Pooled	Equal	-2.63	38	0.0124	0.02845	1	1	2	-0.24463	1.90778	1.54595
24	5360719	MAPK9	NM_002752.3	6.8029	6.9261	-0.1232	Pooled	Equal	-2.62	38	0.0124	0.01188	1	1	2	-0.12321	1.90534	1.92515
25	5860075	CAMP	NM_004345.3	9.9646	8.9318	1.0328	Pooled	Equal	2.61	38	0.0129	0.02	1	1	2	1.03277	1.89047	1.69892
26	3170543	ITAI1	NM_001033925.1	8.8499	9.0269	-0.1771	Pooled	Equal	-2.59	38	0.0135	0.02476	1	1	2	-0.17707	1.86892	1.60628
27	360719	CD44	NM_000610.3	7.2686	7.5049	-0.2363	Pooled	Equal	-2.58	38	0.0139	0.01282	1	1	2	-0.23628	1.8562	1.88196
28	5870138	VWF	NM_000552.3	6.8198	6.6721	0.1477	Pooled	Equal	2.58	38	0.0139	0.05146	1	0	1	0.14772	1.85561	1.28851
29	6370435	ETS1	NM_005238.2	10.2	10.6678	-0.4678	Pooled	Equal	-2.57	38	0.0141	0.0058	1	1	2	-0.46775	1.85086	2.23688
30	3170017	MAP2K3	NM_002756.3	8.5388	8.2263	0.3122	Pooled	Equal	2.54	38	0.0152	0.00451	1	1	2	0.31225	1.81911	2.34605
31	1400079	CRHR1	NM_004382.3	6.9215	6.8466	0.0749	Pooled	Equal	2.54	38	0.0153	0.01282	1	1	2	0.07494	1.81484	1.89196
32	1240450	CD27	NM_001242.4	8.27	8.6406	-0.3706	Pooled	Equal	-2.5	38	0.017	0.01383	1	1	2	-0.37061	1.76963	1.85907
33	6960072	HSPD1	NM_002156.4	8.7781	9.056	-0.2779	Pooled	Equal	-2.49	38	0.0172	0.02655	1	1	2	-0.27785	1.76391	1.57598
34	5260315	ZBTB7B	NM_015872.1	6.901	6.7793	0.1217	Pooled	Equal	2.47	38	0.0183	0.011	1	1	2	0.12174	1.73678	1.96862
35	70605	HSPD1	NM_002156.4	9.9889	10.2759	-0.2769	Pooled	Equal	-2.45	38	0.019	0.01491	1	1	2	-0.27691	1.72222	1.82646
36	5420441	TNFSF9	NM_003811.2	6.7756	6.6769	0.0987	Pooled	Equal	2.44	38	0.0195	0.0196	1	1	2	0.09871	1.70969	1.73038
37	270156	UBE2N	NM_003348.3	9.546	9.757	-0.2109	Pooled	Equal	-2.43	38	0.02	0.02	1	1	2	-0.21093	1.69802	1.89892
38	3610709	PAG1	NM_018440.3	8.3033	8.4981	-0.1958	Pooled	Equal	-2.42	38	0.0205	0.02476	1	1	2	-0.19579	1.68762	1.60628
39	1770366	MLT1	NM_006785.2	8.068	8.2886	-0.2205	Pooled	Equal	-2.4	38	0.0214	0.00941	1	1	2	-0.22051	1.67057	2.02644
40	4780075	CEACAM8	NM_001816.2	7.962	7.2856	0.6864	Pooled	Equal	2.38	38	0.0222	0.02149	1	1	2	0.68644	1.66321	1.66776
41	1690626	CMKLR1	NM_004072.1	6.7231	6.6274	0.0956	Pooled	Equal	2.38	38	0.0223	0.011	1	1	2	0.09561	1.65075	1.95862

10

20

30

40

【表 19 - 2】

42	780466	SLC11A1	NM_000578.3	9.8466	9.4391	0.4075	Pooled	Equal	2.36	38	0.0236	0.0186	1	1	2	0.4075	1.629	1.73038
43	1430709	SPACA3	NM_173847.3	6.6516	6.5805	0.071	Pooled	Equal	2.29	38	0.0277	0.00533	1	1	2	0.07103	1.55822	2.27297
44	870193	SP140	NM_001005176.1	7.4131	7.2877	0.1255	Pooled	Equal	2.28	38	0.0286	0.06586	1	0	1	0.12546	1.54419	1.18141
45	5290040	TNFRSF4	NM_003327.2	6.5992	6.5555	0.0437	Pooled	Equal	2.24	38	0.0313	0.04831	1	1	2	0.04373	1.50467	1.31599
46	1050482	CD46	NM_172358.1	6.8321	6.9637	-0.1316	Pooled	Equal	-2.23	38	0.032	0.02655	1	1	2	-0.13161	1.49515	1.57598
47	2140707	SLP1	NM_003064.2	7.3095	6.923	0.3864	Pooled	Equal	2.21	38	0.0332	0.04248	1	1	2	0.38644	1.47913	1.37178
48	4560193	CD44	NM_001001392.1	8.9576	9.1696	-0.212	Pooled	Equal	-2.2	38	0.0342	0.03046	1	1	2	-0.21201	1.46649	1.51622
49	4200746	BPI	NM_001725.1	7.8696	7.3048	0.5649	Pooled	Equal	2.18	38	0.0352	0.03487	1	1	2	0.56488	1.45399	1.45759
50	4590296	MPDH2	NM_000684.2	9.3239	9.5638	-0.2399	Pooled	Equal	-2.17	38	0.0366	0.02845	1	1	2	-0.22987	1.43689	1.54595
51	5420081	LTB	NM_002341.1	9.8993	10.162	-0.2927	Pooled	Equal	-2.14	38	0.0384	0.03046	1	1	2	-0.29269	1.41519	1.51622
52	5810019	C10B	NM_000491.3	7.4045	7.1647	0.2398	Pooled	Equal	2.11	38	0.0417	0.04532	1	1	2	0.23978	1.37949	1.34375
53	6840436	ULRP1	NM_001081637.1	12.8694	12.9059	-0.2366	Pooled	Equal	-2.09	38	0.0429	0.04532	1	1	2	-0.23657	1.3676	1.34375
54	6290343	CRH	NM_000756.1	6.6596	6.623	0.0366	Pooled	Equal	2.07	38	0.0451	0.02476	1	1	2	0.03659	1.34582	1.60628
55	7200392	C10BP	NM_001212.3	9.8569	10.0245	-0.1675	Pooled	Equal	-2.06	38	0.046	0.06993	1	0	1	-0.16752	1.33722	1.15533
56	4120379	GFII	NM_005263.2	7.8526	7.6175	0.235	Pooled	Equal	2.06	38	0.0463	0.05479	1	0	1	0.23505	1.33486	1.26132
57	3990703	IL10	NM_000572.2	10.7567	11.1219	-0.3652	Pooled	Equal	-2.05	38	0.047	0.05146	1	0	1	-0.36524	1.32783	1.28851
58	1230767	FTM2	NM_006435.2	12.8638	12.476	0.3878	Pooled	Equal	2.05	38	0.0473	0.04831	1	1	2	0.38784	1.3249	1.31599
59	6400386	MAP4K2	NM_004579.2	9.8522	9.6326	0.2196	Pooled	Equal	2.05	38	0.0474	0.05479	1	0	1	0.21964	1.3242	1.26132
60	10142	CD164	NM_006016.3	6.8434	6.9864	-0.143	Pooled	Equal	-2.03	38	0.0489	0.02307	1	1	2	-0.14303	1.31036	1.63668
61	3180494	BCL2	NM_000033.2	8.2981	8.6083	-0.3202	Pooled	Equal	-2.03	38	0.0493	0.0398	1	1	2	-0.32016	1.30743	1.4001
62	290582	CASP8	NM_033366.3	6.7671	6.6996	0.0975	Pooled	Equal	2.03	38	0.0499	0.02845	1	1	2	0.09746	1.30167	1.54595
63	7200386	GFIB	NM_004188.3	6.6923	6.6295	0.0628	Pooled	Equal	2.01	38	0.0519	0.09893	0	0	0	0.06283	1.28501	1.00466
64	5090386	HSPA4	NM_198431.1	9.2162	9.405	-0.1888	Pooled	Equal	-1.99	38	0.0543	0.03726	0	1	1	-0.18878	1.26483	1.42871
65	6330445	CASP3	NM_004346.3	6.6553	6.6183	0.037	Pooled	Equal	1.98	38	0.0548	0.12982	0	0	0	0.03704	1.2616	0.88665
66	4810333	IL12RB1	NM_153701.1	7.4262	7.2541	0.1721	Pooled	Equal	1.98	38	0.055	0.08342	0	0	0	0.17215	1.25985	1.07876
67	3520167	CD63	NM_001040034.1	8.9275	8.6779	0.2495	Pooled	Equal	1.98	38	0.0553	0.06586	0	0	0	0.24953	1.25701	1.18141
68	2490537	TNFRSF1B	NM_001066.2	9.3305	9.0642	0.2663	Pooled	Equal	1.98	38	0.0554	0.05479	0	0	0	0.26631	1.25678	1.26132
69	5570730	TTCAM1	NM_182919.1	8.2608	7.9802	0.2806	Pooled	Equal	1.98	38	0.0554	0.15167	0	0	0	0.28059	1.25666	0.8191
70	2900451	MR1	NM_001531.1	8.1442	7.9975	0.1467	Pooled	Equal	1.97	38	0.0557	0.12311	0	0	0	0.14673	1.25425	0.90971
71	3290441	EMPR1A	NM_004329.2	6.8959	6.9693	-0.0734	Pooled	Equal	-1.96	38	0.0575	0.06586	0	0	0	-0.07343	1.24053	1.18141
72	6650242	FTM3	NM_021034.2	11.7018	11.2156	0.4862	Pooled	Equal	1.94	38	0.0584	0.04248	0	1	1	0.48619	1.22644	1.37178
73	5310053	LTB	NM_002341.1	12.2713	12.556	-0.2846	Pooled	Equal	-1.94	38	0.0603	0.09352	0	0	0	-0.28485	1.21984	1.02909
74	1010246	IF16	NM_022872.2	9.0927	8.5078	0.5849	Pooled	Equal	1.94	38	0.0603	0.06586	0	0	0	0.58489	1.21951	1.18141
75	3140242	KIF2DL3	NM_014511.3	9.2033	8.6994	0.504	Pooled	Equal	1.91	38	0.0635	0.08835	0	0	0	0.50399	1.19711	1.05378
76	2970201	ABHD2	NM_152924.3	6.9306	6.8958	0.0648	Pooled	Equal	1.9	38	0.0655	0.06586	0	0	0	0.06478	1.18408	1.18141
77	4180085	ABL1	NM_005157.3	7.3424	7.1924	0.15	Pooled	Equal	1.89	38	0.066	0.07421	0	0	0	0.14999	1.18021	1.12953
78	3800725	SPHK2	NM_020126.3	7.9083	7.7437	0.1646	Pooled	Equal	1.89	38	0.0666	0.10459	0	0	0	0.1646	1.17643	0.98052
79	5310754	VNN1	NM_004666.1	7.0161	6.888	0.128	Pooled	Equal	1.88	38	0.0679	0.0398	0	1	1	0.12802	1.16809	1.4001
80	430142	HSPA4	NM_002154.3	7.086	7.2329	-0.147	Pooled	Equal	-1.85	38	0.0717	0.05829	0	0	0	-0.14695	1.14455	1.2344
81	1030270	FPR1	NM_002029.3	11.6868	11.3479	0.3389	Pooled	Equal	1.85	38	0.0725	0.09893	0	0	0	0.33894	1.1395	1.00466

10

20

30

40

【表 19 - 3】

82	540871	LLRB2	NM_001080978.1	9.4993	9.272	0.2273	Pooled	Equal	1.83	38	0.0744	0.02149	0	1	1	0.22727	1.12837	1.86776
83	610601	LYST	NM_001081.2	7.7998	7.903	-0.1905	Pooled	Equal	-1.82	38	0.0763	0.0398	0	1	1	-0.1905	1.11768	1.4001
84	4810474	IL18	NM_001562.2	13.2815	13.4723	-0.1908	Pooled	Equal	-1.81	38	0.0774	0.08835	0	0	0	-0.1908	1.11102	1.05378
85	2810156	IGF2R	NM_000876.2	9.8756	9.6428	0.2328	Pooled	Equal	1.81	38	0.0788	0.1105	0	0	0	0.23285	1.10327	0.95664
86	1180519	MS4A1	NM_021950.3	6.7216	6.8175	-0.096	Pooled	Equal	-1.8	38	0.0791	0.23397	0	0	0	-0.09595	1.10207	0.63085
87	5390246	CCR7	NM_001838.2	9.9724	10.3942	-0.4218	Pooled	Equal	-1.8	38	0.0792	0.09352	0	0	0	-0.42181	1.10121	1.02909
88	4250136	LTB4R	NM_181657.1	7.8286	7.6741	0.1546	Pooled	Equal	1.79	38	0.0813	0.06993	0	0	0	0.15458	1.08977	1.15533
89	610113	TNFSF14	NM_003807.2	7.4507	7.2152	0.2355	Pooled	Equal	1.78	38	0.0834	0.07421	0	0	0	0.23552	1.079	1.12953
90	3400382	FPER2	NM_001462.3	7.9307	7.6552	0.2754	Pooled	Equal	1.78	38	0.0836	0.1441	0	0	0	0.27545	1.07776	0.84135
91	2060377	TLR3	NM_003265.2	6.6058	6.5672	0.0385	Pooled	Equal	1.77	38	0.084	0.05146	0	0	0	0.03854	1.07572	1.28851
92	2070037	ICOS	NM_012092.2	8.6581	8.9752	-0.317	Pooled	Equal	-1.77	38	0.0847	0.09352	0	0	0	-0.31702	1.07188	1.02909
93	830324	FLT3LG	NM_001459.2	7.9726	8.1475	-0.175	Pooled	Equal	-1.77	38	0.0852	0.12982	0	0	0	-0.17496	1.06948	0.88665
94	3610440	MAF	NM_005360.3	9.0903	8.8146	0.2857	Pooled	Equal	1.77	38	0.0853	0.09352	0	0	0	0.28566	1.0668	1.02909
95	6520215	ANKA1	NM_000700.1	12.4165	12.6172	-0.2006	Pooled	Equal	-1.76	38	0.0859	0.08342	0	0	0	-0.20065	1.06109	1.07876
96	5220189	PIK3AP1	NM_152309.2	7.5028	7.6559	-0.1531	Pooled	Equal	-1.75	38	0.0876	0.12311	0	0	0	-0.1531	1.05764	0.90971
97	620717	CC15	NM_002885.2	13.3773	13.0768	0.3005	Pooled	Equal	1.75	38	0.0889	0.02845	0	1	1	0.30045	1.05105	1.54595
98	6110343	CC123	NM_145898.1	7.3429	7.2314	0.1115	Pooled	Equal	1.74	38	0.0891	0.15954	0	0	0	0.11147	1.04993	0.79712
99	5490750	RELA	NM_021975.2	7.1608	7.006	0.1547	Pooled	Equal	1.74	38	0.0893	0.09352	0	0	0	0.15475	1.04908	1.02909
100	1260801	ST6GAL1	NM_173216.1	6.7798	6.8588	-0.079	Pooled	Equal	-1.74	38	0.0903	0.15167	0	0	0	-0.07899	1.04414	0.8191

10

20

30

40

【0071】

上記の100種類の免疫関連遺伝子を用いて変数選択を行った結果、29遺伝子が選択された(表20)。この29遺伝子の遺伝子セットは、長命・短命の判別に関して学習データ(40人)で100%の判別率で予測可能であった。この遺伝子セットでテスト用データ(11人)を判別したところ、短命の判別率(ctcP0)は83.33%、長命の判別率(ctcP1)は80%であ

50

った（表 2 1）。

【表 2 0】

OBS	probeID	Symbol	Accession
1	610113	TNFSF14	NM 003807.2
2	610170	EREG	NM 001432.2
3	870156	CD1A	NM 001763.2
4	940356	IL15RA	NM 002189.2
5	1110091	TIAL1	NM 001033925.1
6	1300274	ANXA11	NM 001157.2
7	1450008	IL16	NM 172217.1
8	2260731	ERAP2	NM 022350.2
9	2640025	HP	NM 005143.2
10	2750324	PRKCZ	NM 002744.4
11	2760500	CD38	NM 001775.2
12	3420026	FAS	NM 152877.1
13	3520601	MPO	NM 000250.1
14	4210612	AP3D1	NM 003938.5
15	4220152	SIRPG	NM 018556.3
16	4290736	MAP2K2	NM 030662.2
17	4390241	BCL2L11	NM 207002.2
18	4830255	DPP4	NM 001935.3
19	5080608	LAT	NM 014387.3
20	5420095	MYC	NM 002467.3
21	5810685	THBS1	NM 003246.2
22	5960136	CLEC4C	NM 130441.2
23	6220639	HSF1	NM 005526.2
24	6450390	IL2RG	NM 000206.1
25	6520725	TNFRSF14	NM 003820.2
26	6580408	CTSW	NM 001335.3
27	6900424	TYK2	NM 003331.3
28	7210543	PLD2	NM 002663.2
29	7610390	NOD1	NM 006092.1

10

20

30

【表 2 1】

pbnum	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	flg_ccv	flg_ctc
29	100	100	83.33	80	1	1

【0 0 7 2】

上記29種類の免疫関連遺伝子から、特に関連があると考えられ、かつ生存期間と遺伝子発現の相関が高い上位11遺伝子にTNF関連遺伝子(2360672)を追加した、12遺伝子を選択した（表 2 2）。

【表 2 2】

OBS	probeID	Symbol	Accession
1	610113	TNFSF14	NM_003807.2
2	940356	IL15RA	NM_002189.2
3	1110091	TIAL1	NM_001033925.1
4	2360672	TNFRSF19	NM_148957.2
5	2640025	HP	NM_005143.2
6	3420026	FAS	NM_152877.1
7	3520601	MPO	NM_000250.1
8	4830255	DPP4	NM_001935.3
9	5420095	MYC	NM_002467.3
10	5960136	CLEC4C	NM_130441.2
11	6450390	IL2RG	NM_000206.1
12	6520725	TNFRSF14	NM_003820.2

10

【0 0 7 3】

2 : 選択された遺伝子の判別率

(1) 1 ~ 12 遺伝子の組合せによる判別率

上記12遺伝子のうち、1種類で高率 ($ccvP0 + ccvP1 + ctcP0 + ctcP1 > 290$) に予測可能な遺伝子プローブは1種類:4830255 (表 2 3) であり、短命の判別に関して学習データ (40人) で90%、テストデータ (11人) で50%、長命の判別に関して学習データで70%、テストデータで80%の確率で予測可能であった。

20

【表 2 3】

pb1	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
4830255	90	70	50	80	290	0	0

また、上記12遺伝子のうち、2 ~ 11種類で高率 ($ccvP0 + ccvP1 + ctcP0 + ctcP1 > 290$) に予測可能な遺伝子プローブの例を、以下の表に示す。

【表 2 4】

2種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
2360672	5420095	75	85	50	100	310	0	0
4830255	6450390	90	70	67	80	307	0	0
940356	4830255	85	70	67	80	302	0	0
610113	4830255	90	70	50	80	290	0	0

30

【0 0 7 4】

【表 2 5】

3種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
940356	2360672	4830255	95	80	67	80	322	1	0
610113	1110091	2360672	85	80	50	100	315	1	0
610113	2360672	4830255	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	4830255	85	80	67	80	312	1	0
2360672	3420026	5420095	75	85	50	100	310	0	0
1110091	2360672	4830255	85	90	33	100	308	1	0
610113	4830255	6450390	90	70	67	80	307	0	0
2360672	3420026	4830255	90	85	50	80	305	1	0
2360672	4830255	6520725	90	85	50	80	305	1	0
610113	2360672	2640025	65	75	83	80	303	0	1
610113	940356	4830255	85	70	67	80	302	0	0
3420026	4830255	6450390	90	65	67	80	302	0	0
4830255	6450390	6520725	85	70	67	80	302	0	0
2360672	5420095	5960136	70	80	50	100	300	0	0
1110091	2360672	2640025	85	80	33	100	298	1	0
1110091	2360672	5420095	75	90	33	100	298	0	0
2360672	5420095	6450390	70	75	50	100	295	0	0
1110091	2360672	6450390	80	80	33	100	293	1	0
610113	3520601	5420095	70	90	33	100	293	0	0
2360672	3520601	5420095	75	85	33	100	293	0	0
3520601	5420095	5960136	70	90	33	100	293	0	0
610113	940356	2360672	70	75	67	80	292	0	0
2360672	2640025	6520725	65	80	67	80	292	0	0
3420026	4830255	5960136	90	70	50	80	290	0	0

10

20

【 0 0 7 5 】

【表 2 6】

4 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
940356	2360672	4830255	6520725	95	70	83	80	328	0	1
610113	1110091	2360672	3420026	85	80	50	100	315	1	0
610113	1110091	2360672	5960136	85	80	50	100	315	1	0
610113	1110091	2360672	6520725	85	80	50	100	315	1	0
610113	2360672	2640025	4830255	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	4830255	6520725	85	80	67	80	312	1	0
610113	940356	2360672	4830255	90	75	67	80	312	0	0
940356	2360672	4830255	5960136	95	70	67	80	312	0	0
610113	1110091	2360672	6450390	80	80	50	100	310	1	0
610113	1110091	2360672	5420095	75	85	50	100	310	0	0
1110091	2360672	4830255	5960136	85	90	33	100	308	1	0
2360672	2640025	4830255	5960136	80	80	67	80	307	1	0
610113	2360672	4830255	6450390	85	75	67	80	307	0	0
610113	2360672	4830255	6520725	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	4830255	6450390	85	75	67	80	307	0	0
2360672	3420026	4830255	6450390	90	85	50	80	305	1	0
2360672	3420026	4830255	6520725	90	85	50	80	305	1	0
2360672	4830255	6450390	6520725	90	85	50	80	305	1	0
2360672	3420026	5420095	5960136	70	85	50	100	305	0	0
2360672	3520601	5420095	5960136	70	85	50	100	305	0	0
610113	1110091	2360672	4830255	85	85	33	100	303	1	0
940356	1110091	2360672	3520601	90	80	33	100	303	1	0
1110091	3420026	3520601	4830255	90	80	33	100	303	1	0
940356	2360672	2640025	3520601	85	85	50	80	300	1	0
940356	2360672	2640025	5420095	85	85	50	80	300	1	0
2360672	4830255	5960136	6520725	90	80	50	80	300	1	0
2360672	3420026	5420095	6520725	70	80	50	100	300	0	0
610113	940356	1110091	2360672	85	80	33	100	298	1	0
1110091	2360672	2640025	6520725	85	80	33	100	298	1	0
1110091	2360672	3520601	5420095	80	85	33	100	298	1	0
1110091	2360672	5420095	6450390	80	85	33	100	298	1	0
610113	2360672	2640025	5960136	60	75	83	80	298	0	1
610113	2360672	2640025	6450390	65	70	83	80	298	0	1
1110091	2360672	3420026	5420095	75	90	33	100	298	0	0
1110091	2360672	5420095	5960136	75	90	33	100	298	0	0
1110091	2360672	5420095	6520725	75	90	33	100	298	0	0
610113	2360672	2640025	3420026	75	75	67	80	297	0	0
610113	2640025	3420026	4830255	85	65	67	80	297	0	0
610113	3420026	4830255	6450390	85	65	67	80	297	0	0
610113	2360672	3420026	4830255	85	80	50	80	295	1	0
2360672	2640025	3520601	4830255	85	80	50	80	295	1	0
610113	940356	2360672	3420026	90	75	50	80	295	0	0
610113	2360672	3520601	5420095	65	80	50	100	295	0	0
940356	2360672	2640025	4830255	90	75	50	80	295	0	0

10

20

30

【 0 0 7 6 】

【表 2 7】

5 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_cov	flg_ctc
610113	940356	2360672	4830255	6520725	95	70	83	80	328	0	1
2360672	2640025	4830255	6450390	6520725	90	80	67	80	317	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	5960136	85	80	50	100	315	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	6520725	85	80	50	100	315	1	0
610113	1110091	2360672	5960136	6520725	85	80	50	100	315	1	0
610113	1110091	2360672	6450390	6520725	85	80	50	100	315	1	0
610113	2360672	2640025	4830255	6520725	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	4830255	5960136	6520725	85	80	67	80	312	1	0
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	65	80	67	100	312	0	0
610113	1110091	2360672	2640025	5960136	80	80	50	100	310	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	6450390	80	80	50	100	310	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	5420095	75	85	50	100	310	0	0
610113	1110091	2360672	5420095	5960136	75	85	50	100	310	0	0
610113	1110091	2360672	5420095	6450390	75	85	50	100	310	0	0
1110091	2360672	4830255	6450390	6520725	85	90	33	100	308	1	0
610113	2360672	2640025	4830255	5960136	80	80	67	80	307	1	0
610113	2360672	2640025	3420026	4830255	85	75	67	80	307	0	0
610113	2360672	2640025	4830255	6450390	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	6520725	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
940356	2360672	2640025	3520601	4830255	90	85	50	80	305	1	0
940356	2360672	2640025	4830255	6520725	95	80	50	80	305	1	0
1110091	2360672	2640025	4830255	5960136	90	85	50	80	305	1	0
1110091	2360672	2640025	4830255	6450390	90	85	50	80	305	1	0
2360672	3420026	4830255	6450390	6520725	90	85	50	80	305	1	0
610113	1110091	2360672	5420095	6520725	75	80	50	100	305	0	0

【 0 0 7 7 】

10

20

【表 2 8】

6 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_cov	flg_ctc
61013	111091	2360672	3420026	5420095	6450390	75	85	67	100	327	0	0
61013	111091	2360672	5420095	5960136	6450390	70	85	67	100	322	0	0
61013	111091	2360672	5420095	6450390	6520725	80	75	67	100	322	0	0
61013	111091	2360672	4830255	6450390	6520725	85	85	50	100	320	1	0
61013	2360672	2640025	4830255	6450390	6520725	90	80	67	80	317	1	0
1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	90	80	67	80	317	1	0
61013	111091	2360672	3420026	5960136	6520725	85	80	50	100	315	1	0
61013	111091	2360672	3420026	6450390	6520725	85	80	50	100	315	1	0
61013	111091	2360672	5960136	6450390	6520725	85	80	50	100	315	1	0
1110091	2360672	3420026	4830255	6450390	6520725	80	85	50	100	315	1	0
1110091	2360672	3520601	4830255	6450390	6520725	80	85	50	100	315	1	0
61013	2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6520725	85	80	67	80	312	1	0
2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	6520725	90	75	67	80	312	0	0
61013	111091	2360672	2640025	3420026	5960136	80	80	50	100	310	1	0
61013	111091	2360672	2640025	5960136	6520725	80	80	50	100	310	1	0
61013	111091	2360672	3420026	5420095	5960136	75	85	50	100	310	0	0
61013	111091	3420026	3520601	4830255	6520725	90	85	33	100	308	1	0
940356	111091	2360672	2640025	3520601	6520725	90	85	33	100	308	1	0
1110091	2360672	4830255	5960136	6450390	6520725	85	90	33	100	308	1	0
61013	2360672	2640025	4830255	5960136	6520725	80	80	67	80	307	1	0
940356	111091	3420026	3520601	4830255	6520725	100	90	17	100	307	1	0
2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	67	80	307	1	0
61013	2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	85	75	67	80	307	0	0
61013	2360672	2640025	3420026	4830255	6520725	85	75	67	80	307	0	0
61013	2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
940356	2360672	2640025	5960136	6450390	6520725	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	6520725	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3520601	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
61013	940356	2360672	2640025	3520601	4830255	90	85	50	80	305	1	0
61013	940356	2360672	2640025	4830255	6520725	95	80	50	80	305	1	0
61013	111091	2360672	2640025	4830255	5960136	90	85	50	80	305	1	0
61013	111091	2360672	2640025	4830255	6450390	90	85	50	80	305	1	0
940356	2360672	2640025	3520601	4830255	6520725	90	85	50	80	305	1	0
1110091	2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	90	85	50	80	305	1	0

10

20

【 0 0 7 8 】

30

【表 2 9】

7 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
610113	1110091	3420026	3520601	4830255	6450390	6520725	90	85	50	100	325	1	0
610113	1110091	2360672	4830255	5960136	6450390	6520725	85	85	50	100	320	1	0
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	90	80	67	80	317	1	0
1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	90	80	67	80	317	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	5420095	5960136	6450390	70	80	67	100	317	0	0
610113	1110091	2360672	3420026	5420095	6450390	6520725	75	75	67	100	317	0	0
610113	1110091	2360672	5420095	5960136	6450390	6520725	75	75	67	100	317	0	0
610113	1110091	2360672	3420026	4830255	6450390	6520725	80	85	50	100	315	1	0
1110091	2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	6520725	90	85	50	100	315	1	0
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	85	80	67	80	312	1	0
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6520725	85	80	67	80	312	1	0
940356	2360672	2640025	4830255	5420095	5960136	6520725	85	80	67	80	312	1	0
610113	2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	6520725	90	75	67	80	312	0	0
2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	6520725	90	75	67	80	312	0	0
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	5960136	6520725	80	80	50	100	310	1	0
610113	1110091	2360672	3420026	5960136	6450390	6520725	80	80	50	100	310	1	0
610113	1110091	2360672	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	50	100	310	1	0
610113	2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	67	80	307	1	0
2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	67	80	307	1	0
610113	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6520725	85	75	67	80	307	0	0
610113	2360672	2640025	3420026	4830255	6450390	6520725	85	75	67	80	307	0	0
610113	2360672	2640025	3520601	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	5960136	6450390	85	75	67	80	307	0	0
610113	1110091	2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	90	85	50	80	305	1	0
940356	1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	95	80	50	80	305	1	0
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	3520601	5960136	75	80	50	100	305	0	0
610113	1110091	2360672	3420026	5420095	5960136	6520725	75	80	50	100	305	0	0
610113	940356	1110091	2360672	3420026	3520601	6520725	90	80	33	100	303	1	0
610113	1110091	2360672	2640025	4830255	5960136	6520725	85	85	33	100	303	1	0
1110091	2360672	3420026	3520601	4830255	6450390	6520725	85	85	33	100	303	1	0
610113	940356	1110091	3520601	4830255	5960136	6520725	95	90	17	100	302	1	0

10

20

【 0 0 7 9】

【表 3 0】

8 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	pb8	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	90	80	66.67	80	317	1
610113	1110091	3420026	3520601	4830255	5960136	6450390	6520725	85	80	50	100	315	1
610113	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	6520725	90	75	66.67	80	312	0
610113	1110091	2360672	3420026	4830255	5960136	6450390	6520725	80	80	50	100	310	1
610113	1110091	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	50	100	310	1
1110091	2360672	2640025	3520601	4830255	5960136	6450390	6520725	80	80	50	100	310	1
940356	1110091	2360672	2640025	3520601	5420095	5960136	6520725	90	85	33.33	100	308	1
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	6520725	80	80	66.67	80	307	1
610113	940356	2360672	2640025	4830255	5420095	5960136	6520725	85	75	66.67	80	307	0
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	5960136	6450390	85	75	66.67	80	307	0
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	3520601	5960136	6520725	75	80	50	100	305	0
610113	1110091	2360672	2640025	3520601	4830255	6450390	6520725	80	75	50	100	305	0
610113	940356	1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	95	80	50	80	305	1
610113	940356	1110091	2360672	2640025	4830255	5960136	6450390	95	80	50	80	305	1
940356	1110091	2360672	2640025	3420026	4830255	5960136	6450390	95	80	50	80	305	1
610113	940356	1110091	2360672	2640025	3520601	5960136	6520725	85	85	33.33	100	303	1
940356	1110091	2360672	2640025	3520601	5420095	6450390	6520725	85	85	33.33	100	303	1
610113	940356	1110091	2360672	2640025	3420026	3520601	6520725	90	80	33.33	100	303	1
940356	1110091	2360672	2640025	3420026	3520601	5420095	6520725	90	80	33.33	100	303	1
940356	1110091	2360672	3420026	4830255	5960136	6450390	6520725	90	80	33.33	100	303	1
610113	940356	1110091	2640025	3520601	4830255	5960136	6520725	95	90	16.67	100	302	1
610113	940356	1110091	2360672	3420026	3520601	4830255	6520725	100	85	16.67	100	302	1
610113	2360672	2640025	3520601	4830255	5960136	6450390	6520725	80	75	66.67	80	302	0
2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	5960136	6450390	6520725	80	75	66.67	80	302	0
610113	2360672	2640025	3420026	3520601	5420095	5960136	6520725	70	80	50	100	300	0
610113	1110091	2360672	3420026	5420095	5960136	6450390	6520725	75	75	50	100	300	0
1110091	2360672	2640025	3520601	5420095	5960136	6450390	6520725	75	75	50	100	300	0
610113	940356	2360672	2640025	5420095	5960136	6450390	6520725	85	85	50	80	300	1
610113	940356	2360672	2640025	5420095	5960136	6450390	6520725	90	80	50	80	300	1
610113	1110091	2360672	2640025	3420026	3520601	4830255	6450390	90	80	50	80	300	1

30

40

50

【表 3 3】

1 1 種類の遺伝子の組み合わせ

pb1	pb2	pb3	pb4	pb5	pb6	pb7	pb8	pb9	pb10	pb11	ccvP0	ccvP1	ctcP0	ctcP1	sumP	flg_ccv	flg_ctc
61013	940356	1110091	2360672	3420026	3520601	4830255	5420095	5960136	6450390	6520724	90	85	17	100	292	1	0

【 0 0 8 3】

上記表において、pb1~11、ccvP0、ccvP1、ctcP0、ctcP1、sumP、flg_ccv、flg_ctc等は、以下を意味する：

pb1：プローブ1

pb2：プローブ2

pb3：プローブ3

pb4：プローブ4

pb5：プローブ5

pb6：プローブ6

pb7：プローブ7

pb8：プローブ8

pb9：プローブ9

pb10：プローブ10

pb11：プローブ11

pb12：プローブ12

ccvP0：学習用データで、「短命 短命」と正しく判定できた割合

ccvP1：学習用データで、「長命 長命」と正しく判定できた割合

ctcP0：テスト用データで、「短命 短命」と正しく判定できた割合

ctcP1：テスト用データで、「長命 長命」と正しく判定できた割合

sumP：ccvP0 + ccvP1 + ctcP0 + ctcP1

flg_ccv：ccvP0 と ccvP1 がともに 80%以上のもの

flg_ctc：ctvP0 と ctvP1 がともに 80%以上のもの。

【 0 0 8 4】

実施例 3

進行性再燃前立腺癌患者における個別化ペプチドワクチン投与後90日以上生存した群を長命群（16症例）と、ワクチン投与後300日以内に死亡した群を短命群（14症例）とした。なお、ペプチドワクチンは、ワクチン接種前に存在する宿主免疫を考慮して医師により適宜選択された。最大4ペプチド（3mg/各ペプチド）をフロイント不完全アジュバントと共に、1回/週、6週間皮下投与した。ワクチン投与前およびワクチン投与後で血液を採取し、末梢血単核球(PBMCs)を、Ficoll-Paque（GE Healthcare Life Sciences, Uppsala, Sweden）を用いた密度勾配遠心により調製した。患者の末梢血単核球（顆粒球、リンパ球等を含む）における長命群と短命群の2群間で発現の差が見られる遺伝子を、DNAマイクロアレイ（Illumina社製 Human WG-6 v3.0 Expression BeadChip）を用いて、実施例1と同様にして解析した。なお、マイクロアレイのデータは、BeadStudio v3.0 software（Illumina）を用いて抽出した。長命群と短命群の遺伝子発現の差を評価するために、fold-change (FC) rankingおよびLinear Models for Microarray Data (LIMMA) Bioconductor packageを用いたP-valueを採用した。FCは、 $\log_2 FC = \log_2 (S_S / S_L)$ （ここで、 S_L は長命群由来のサンプルにおける標的遺伝子のアッセイレンジ（assay range）を、 S_S は短命群由来のサンプルにおける標的遺伝子のアッセイレンジ（assay range）を表す）で計算された。

発現量の違い（ $\log_2 FC$ ）を横軸に、統計学的有意性（negative log P-value）を縦軸にしたvolcano plotを作成した（図6）。図6中、円内の領域は、ワクチン投与後において、長命群と短命群の間で発現の差が大きかった遺伝子を示す。

fold-change ranking ($\log_2 FC < -1.0$ or > 1.0)かつP-value ($P < 0.01$)の条件を満た

10

20

30

40

50

す遺伝子が36遺伝子に相当する42プローブが同定された。そのうち1遺伝子（LTB）は短命群で減少したが残り35遺伝子はすべて発現が増加した（表34）。

【0085】

【表34】

Gene symbol	Gene name	¹ Fold change	² P-Value	³ Expression	⁴ Pre and Post	
LTB	lymphotoxin beta	-1.03	2.01.E-05			
OLR1	oxidized low density lipoprotein receptor 1	1.04	3.76.E-03			
CEACAM1	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1	1.07	3.09.E-05	*		
ARG1	arginase, liver	1.10	4.66.E-06	*		
MYL4	myosin, light chain 4, alkali; atrial, embryonic	1.14	7.10.E-03			10
ALAS2	aminolevulinate, delta-, synthase 2	1.20	9.35.E-03	**		
SLPI	secretory leukocyte peptidase inhibitor	1.22	1.58.E-05	*		
SELENBP1	selenium binding protein 1	1.22	7.56.E-03			
SNCA	synuclein, alpha	1.25	7.55.E-03			
AZU1	azurocidin 1	1.25	1.89.E-06	*	#	
HMGXB4	HMG box domain containing 4	1.27	1.07.E-03			
RNASE3	ribonuclease, RNase A family, 3	1.28	9.83.E-04	*	#	
HBQ1	hemoglobin, theta 1	1.31	1.42.E-03	**		
MMP9	matrix metalloproteinase 9	1.32	3.56.E-06	*		
GYPE	glycophorin E	1.36	5.00.E-04	**		20
SNCA	synuclein, alpha	1.39	4.85.E-03			
EPB42	erythrocyte membrane protein band 4.2	1.45	3.00.E-03	**		
HP	haptoglobin	1.50	2.58.E-05	**		
IFIT1L	interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1-like	1.51	2.89.E-03			
CD24	CD24 molecule	1.55	8.89.E-05	*		
BPI	bactericidal/permeability-increasing protein	1.64	1.29.E-05	*		
CEACAM6	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6	1.72	1.34.E-06	*	#	
PGLYRP1	peptidoglycan recognition protein 1	1.80	4.59.E-05	*	#	
MPO	myeloperoxidase	1.94	1.03.E-06	*	#	
OLFM4	olfactomedin 4	2.01	1.34.E-04			
HBM	hemoglobin, mu	2.05	1.67.E-03	**		30
ALAS2	aminolevulinate, delta-, synthase 2	2.11	4.62.E-03	**		
CEACAM8	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8	2.13	2.97.E-06	*	#	
ERAF	erythroid associated factor	2.29	2.33.E-03	**		
CA1	carbonic anhydrase I	2.31	3.00.E-04	*		
HBD	hemoglobin, delta	2.37	1.83.E-03	**		
LCN2	lipocalin 2	2.40	1.94.E-05	*	#	
CTSG	cathepsin G	2.40	7.60.E-07	*	#	
DEFA1	defensin, alpha 1	2.40	1.20.E-05	*	#	
CAMP	cathelicidin antimicrobial peptide	2.41	2.81.E-05	*	#	
ELA2	elastase 2, neutrophil	2.44	9.74.E-07	*	#	40
DEFA4	defensin, alpha 4, corticostatin	2.53	3.09.E-07	*	#	
DEFA3	defensin, alpha 3, neutrophil-specific	2.65	7.04.E-06	*	#	
DEFA1	defensin, alpha 1	2.65	6.70.E-06	*	#	
DEFA1	defensin, alpha 1	2.67	4.96.E-06	*	#	
DEFA1	defensin, alpha 1	2.68	6.24.E-06	*	#	
DEFA1	defensin, alpha 1	2.87	2.15.E-06	*	#	

¹log₂(FC); ²P-value (limma); ³Preferential expression; *Granulocyte, **Erythroid; ⁴#Identified in both pre- and post-vaccine PBMCs

【0086】

注目に値するのは35の短命群で増加した遺伝子のうち20種類は顆粒球およびそれらの機能に関連して発現することで知られた遺伝子であった。例えば、ディフェンシン（DEFA1，

DEFA3, DEFA4)、ELA2, CTSG, CAMP, あるいは MPOなどが、顆粒球細胞中の顆粒内に局在することが知られている。さらにMMP9やアルギナーゼのように腫瘍増殖や免疫抑制に重要な役割を演じる分子などが認められた。

【 0 0 8 7 】

短命群の方が長命群よりも発現が増加した遺伝子の中で、DEFA1, DEFA4, CEACAM8, および MPOの4種類につき、異なる遺伝子発現をリアルタイムPCRで確認した(図7)。リアルタイムPCRは、Thermal Cycler Dice Real Time System (Takara Bio)を使用し、a SYBR Premix Ex Taq II kit (Takara Bio)を用いて行った。defensin alpha, myeloperoxidase (MPO)、carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8(CEACAM8)、GAPDHについて使用したプライマーの配列は、以下(a)~(d)のとおりである。

10

(a) DEFA1

PCRプライマー1 : 5' -CGGACATCCCAGAAGTGGTTG-3' (配列番号1)

PCRプライマー2 : 5' -CCCTGGTAGATGCAGGTTCCATA-3' (配列番号2)

(b) DEFA4

PCRプライマー1 : 5' -CACTCCAGGCAAGAGGTGATGA-3' ; (配列番号3)

PCRプライマー2 : 5' -GAGGCAGTTCCCAACACGAAGT-3' ; (配列番号4)

(c) CEACAM8

PCRプライマー1 : 5' -TGGCACATTCCAGCAATACACA-3' ; (配列番号5)

PCRプライマー2 : 5' -ATCATGATGCTGACAGTGGCTCTA-3' ; (配列番号6)

20

(d) MPO

PCRプライマー1 : 5' -CTGCATCATCGGTACCCAGTTC-3' (配列番号7)

PCRプライマー2 : 5' -GATGCCTGTGTTGTCGCAGA-3' ; (配列番号8)

(e) GAPDH

PCRプライマー1 : 5' -GCACCGTCAAGGCTGAGAAC-3' ; (配列番号9)

PCRプライマー2 : 5' -TGGTGAAGACGCCAGTGA-3' . (配列番号10)

実施例4

30

ワクチン投与前の患者末梢単核球で長命群(20症例)と短命群(20症例)で発現の異なる遺伝子を検索した。遺伝子の発現量(FC)およびlimma P-valueともにワクチン投与後の場合(実施例3参照)よりも減少した。事実、ワクチン投与後と同じ基準値($\log_2FC < -1.0$ or > 1.0 and $P < 0.01$)で遺伝子を選択した場合、5遺伝子由来の5プローブのみが異なる発現遺伝子として同定された。同じ基準値と比べてより厳しくない基準値($\log_2FC < -0.6$ or > 0.6 and $P < 0.05$)を用いた場合は19遺伝子由来の23プローブが選択された。それらの遺伝子のうち、4遺伝子(PRKAR1A, LRRN3, PCDH17, TTN)が短命群で減少し、15遺伝子(LAIR2, RNASE3, CEACAM6, AZU1, HIST1H4C, PGLYRP1, CEACAM8, LCN2, MPO, CAM P, DEFA1, DEFA3, CTSG, DEFA4, ELA2)が増加した(表35)。

【 0 0 8 8 】

40

【表 3 5】

Gene symbol	Gene name	¹ Fold change	² P-Value	³ Expression	⁴ Pre and Post
PRKAR1A	protein kinase, cAMP-dependent, regulatory, type I, alpha	-0.82	4.89.E-02		
LRRN3	leucine rich repeat neuronal 3	-0.61	8.40.E-03		
PCDH17	protocadherin 17	-0.60	2.16.E-03		
TTN	titin	-0.60	7.55.E-03		
LAIR2	leukocyte-associated immunoglobulin-like receptor 2	0.60	3.23.E-02		
RNASE3	ribonuclease, RNase A family, 3	0.63	2.01.E-02	*	#
CEACAM6	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6	0.65	9.92.E-03	*	#
AZU1	azurocidin 1	0.66	6.37.E-03	*	#
HIST1H4C	histone cluster 1, H4c	0.71	2.47.E-02		
PGLYRP1	peptidoglycan recognition protein 1	0.72	7.49.E-03	*	#
CEACAM8	carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 8	0.78	1.52.E-02	*	#
LCN2	lipocalin 2	1.00	5.26.E-03	*	#
MPO	myeloperoxidase	1.04	1.10.E-03	*	#
CAMP	cathelicidin antimicrobial peptide	1.09	6.78.E-03	*	#
DEFA1	defensin, alpha 1	1.17	3.15.E-02	*	#
DEFA1	defensin, alpha 1	1.20	1.76.E-02	*	#
DEFA1	defensin, alpha 1	1.26	1.76.E-02	*	#
DEFA3	defensin, alpha 3, neutrophil-specific	1.27	1.65.E-02	*	#
DEFA1	defensin, alpha 1	1.27	1.97.E-02	*	#
DEFA1	defensin, alpha 1	1.30	1.54.E-02	*	#
CTSG	cathepsin G	1.32	2.77.E-03	*	#
DEFA4	defensin, alpha 4, corticostatin	1.33	2.06.E-03	*	#
ELA2	elastase 2, neutrophil	1.36	1.64.E-03	*	#

10

20

30

40

¹log₂(FC); ²P-value (limma); ³Preferential expression; *Granulocyte; ⁴Identified in both pre- and post-vaccine PBMCs

注目すべき点としては、これらの短命群で増加した15種類の遺伝子のうち13種類は顆粒球特異的でワクチン投与前後で一般的に同定される遺伝子であった。

マイクロアレーによる遺伝子発現情報のもっとも重要な応用の一つが、治療効果の予測である。そこで、ワクチン投与前の患者末梢単核球でのcDNAマイクロアレーで検索した遺伝子発現プロファイルがペプチドワクチン投与後における予後予測に有用であるかどうかを検討した。上記40症例(長命群(20症例)と短命群(20症例))について、ワクチン投与前の末梢単核球で発現の異なった23プローブ(表35)から変数選択(The stepwise discriminant analysis method)でLRRN3, PCDH17, HIST1H4C, および PGLYRP1の4つの遺伝子セット選び、予後予測を検討した。その結果、40人中32人(80%)で、ワクチン投与後の予後(長命または短命か)を予測することができた。Sensitivity(%), Specificity(%), positive predictive value, negative predictive value, Accuracy(%)は、それぞれ、85%(17/20); 75%(15/20); 77%(17/22); 83%(15/18); 80%(32/40)であった。(表36の上(Training))。確認として、新規independent patients(13人)を対象に4つの遺伝子を用いて判定を行った。その結果、13人中12人(93%)で、ワクチン投与後の予後(長命または短命か)を予測することができた(表36の下(Test))。Sensitivity(%), Specificity(%), positive predictive value, negative predictive value, Accuracy(%)は、それぞれ、100%(7/7); 83%(5/6); 88%(7/8); 100%(5/5); 92%(12/13)であった。なお、表36中、 で囲んだ数字は、予測で短命群に入り、実際にも短命だった患者数、つまり、ワクチン投与前の予後不良判定当たり数を示し、 で囲んだ数字は、予測で長命群に入り、実際にも短命だった患者数、つまり、ワクチン投与前の予後良好判定当たり数を示す。

【0089】

【表 3 6】

Training (n = 40)

		Prediction		
		Short	Long	Total
Actual	Short	17	3	20
	Long	5	15	20
	Total	22	18	40

10

Test (n = 13)

		Prediction		
		Short	Long	Total
Actual	Short	7	0	7
	Long	1	5	6
	Total	8	5	13

20

【0090】

また、ワクチン投与前の患者の血漿中のサイトカイン、ケモカインおよび成長因子のレベルの検出を、bead-based multiplex assay (xMAP; Luminex Corporation, Austin, TX) を用いて行った。IL-1R , IL-1 , IL-2, IL-2R, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-17, IFN- , IFN- , TNF- , G-CSF, GM-CSF, IP-10, RANTES, Eotaxin, MIP-1 , MIP-1 MCP-1, MIG, VEGF, EGF, HGF, および FGF basicを含むサイトカイン、ケモカインおよび成長因子のレベルの測定は、キット (Invitrogen Corporation: Human 30-Plex) を用いて行った。

30

その結果、長命群に比較し、短命群では血漿にIL-6が高含量存在した(図8)。

【産業上の利用可能性】

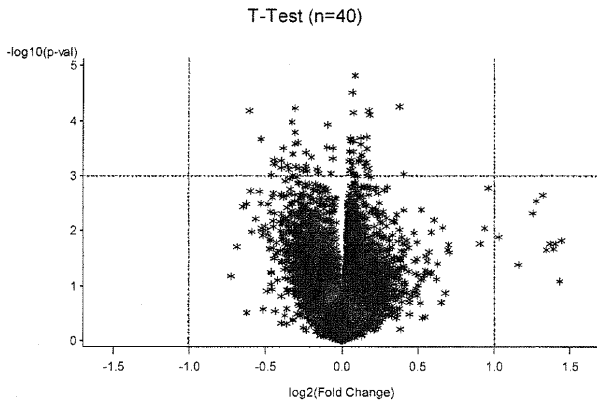
【0091】

本発明は、免疫療法による効果が期待できない患者(予後不良群)の予測を可能とし、がん患者に対する治療法の選択に有用な情報を提供する。

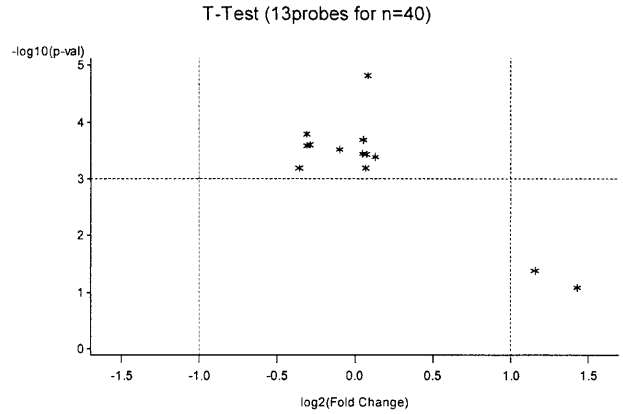
【0092】

本出願の優先権主張の基礎となる出願は日本国特許出願: 特願2010-147797であり、引用によりその全内容が本出願に含まれる。

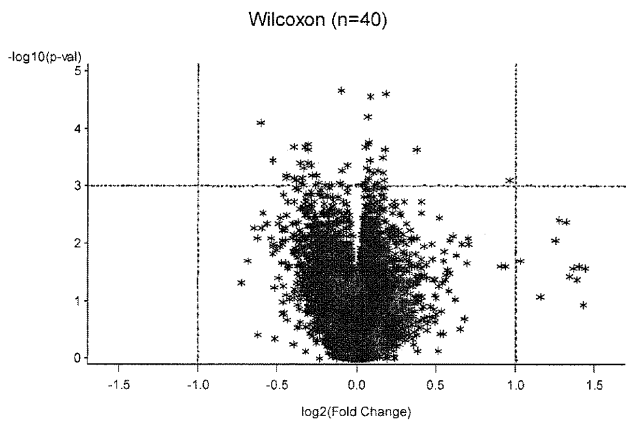
【 図 1 】



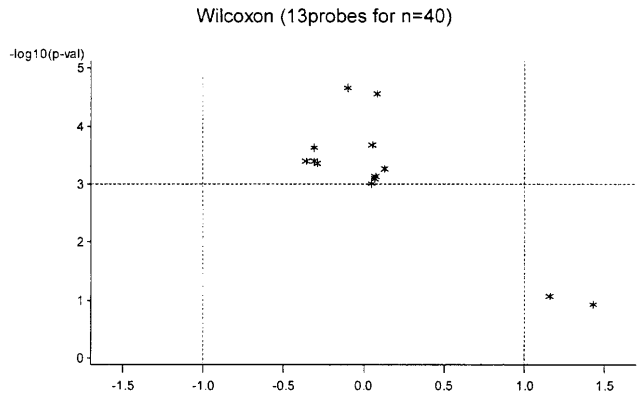
【 図 3 】



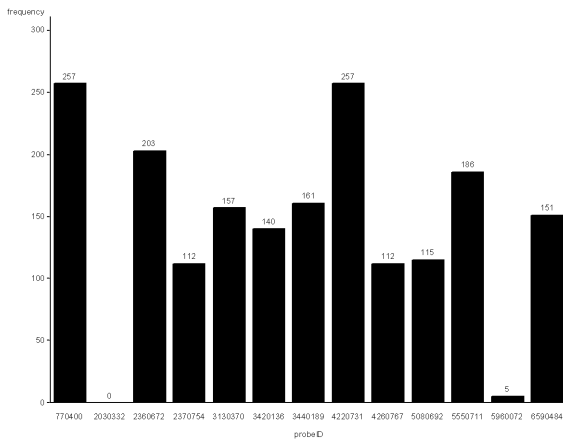
【 図 2 】



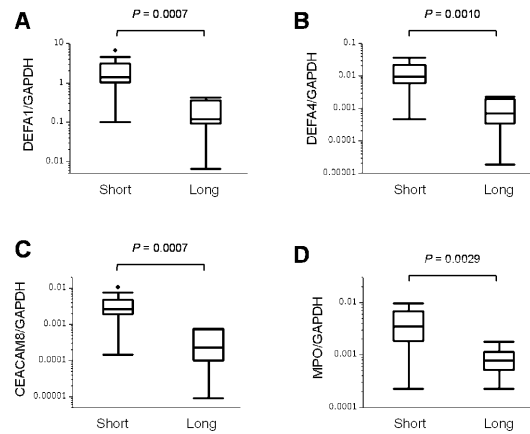
【 図 4 】



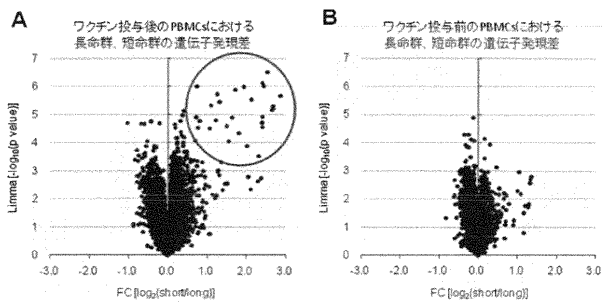
【 図 5 】



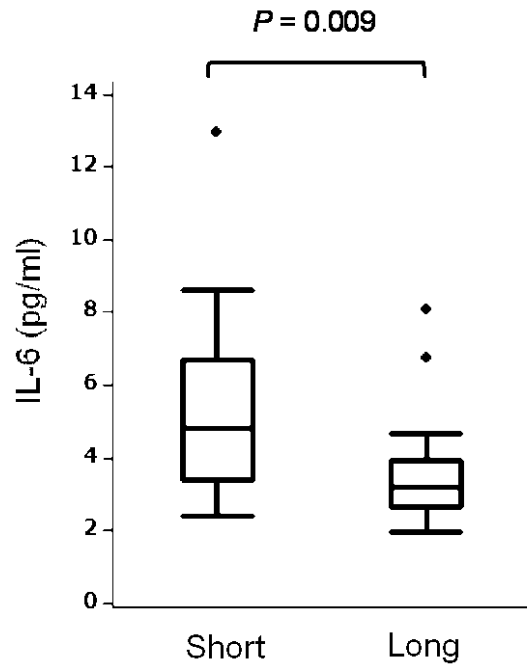
【 図 7 】



【 図 6 】



【 図 8 】



【 配 列 表 】

2012002011000001.app

【 手 続 補 正 書 】

【 提 出 日 】 平 成 24 年 4 月 2 日 (2012.4.2)

【 手 続 補 正 1 】

【 補 正 対 象 書 類 名 】 特 許 請 求 の 範 囲

【 補 正 対 象 項 目 名 】 全 文

【 補 正 方 法 】 変 更

【 補 正 の 内 容 】

【 特 許 請 求 の 範 囲 】

【 請 求 項 1 】

(削 除)

【 請 求 項 2 】

(削 除)

【 請 求 項 3 】

(削 除)

【 請 求 項 4 】

(削 除)

【 請 求 項 5 】

前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法の効果を予測する方法であって、ペプチドワクチン療法前の前立腺癌患者から採取された末梢血単核球において、表35に示す遺伝子の群から選択される少なくとも1の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程、を含む方法。

【 請 求 項 6 】

遺伝子セットが、LRRN3、PCDH17、HIST1H4CおよびPGLYRP1

からなる、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

さらに、該発現レベルを用いて判別分析を行い、該患者の予後を判定する工程を含む、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

予後不良群を予測するための、請求項 5 ~ 7 のいずれかに記載の方法。

【請求項 9】

(削除)

【請求項 10】

(削除)

【請求項 11】

(削除)

【請求項 12】

(削除)

【請求項 13】

(削除)

【請求項 14】

(削除)

【請求項 15】

(削除)

【請求項 16】

(削除)

【請求項 17】

請求項 5、6、23 および 24 のいずれかに記載の遺伝子セットからなる前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法の効果を予測するためのバイオマーカー。

【請求項 18】

(削除)

【請求項 19】

表 35 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子に特異的にハイブリダイズするプライマーを含む、前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法の効果の予測用キット。

【請求項 20】

プライマーが以下(1)~(4)：

- (1) 配列番号 1 の配列からなるプライマーおよび配列番号 2 の配列からなるプライマー；
- (2) 配列番号 3 の配列からなるプライマーおよび配列番号 4 の配列からなるプライマー；
- (3) 配列番号 5 の配列からなるプライマーおよび配列番号 6 の配列からなるプライマー；および、
- (4) 配列番号 7 の配列からなるプライマーおよび配列番号 8 の配列からなるプライマーのいずれかの組み合わせである、請求項 19 に記載のキット。

【請求項 21】

(削除)

【請求項 22】

プライマーが以下(1)~(3)：

- (1) 配列番号 1 の配列からなるプライマーおよび配列番号 2 の配列からなるプライマー；
- (2) 配列番号 3 の配列からなるプライマーおよび配列番号 4 の配列からなるプライマー；または
- (3) 配列番号 5 の配列からなるプライマーおよび配列番号 6 の配列からなるプライマー

である、請求項 19 に記載のキット。

【請求項 23】

ペプチドワクチン療法前の前立腺癌患者から採取された試料において、表 35 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程を含む、前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法の効果を予測する方法であって、該試料が顆粒球であり、該遺伝子セットが RNASE3、CEACAM6、AZU1、PGLYRP1、CEACAM8、LCN2、MPO、CAMP、DEFA1、DEFA3、CTSG、DEFA4 および ELA2 からなる群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットである、方法。

【請求項 24】

ペプチドワクチン療法前の前立腺癌患者から採取された試料において、表 35 に示す遺伝子の群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットの各遺伝子の発現レベルを測定する工程を含む、前立腺癌患者に対するペプチドワクチン療法の効果を予測する方法であって、該試料が顆粒球であり、該遺伝子セットが、DEFA1、DEFA3、DEFA4、ELA2、CTSG、CAMP および MPO からなる群から選択される少なくとも 1 の遺伝子からなる遺伝子セットである、方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2011/058094
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q1/68, C12N15/09, G01N33/53 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2011 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPlus/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	SHI W. et al., Illumina WG-6 BeadChip strips should be normalized separately, BMC Bioinformatics, 2009, Vol.10, No.372, entire text	12-16, 18 1-21
Y	Masanori NOGUCHI, "7. Tailor-Made-gata Peptide Vaccine Ryoho ni yoru Sainen Zenritsusen Gan no Chiryō Seiseki", Hinyokigeka, 2008, vol.21, no.8, pages 1043 to 1047, particularly, II, III	1-21
Y	JP 2009-509525 A (Digital Genomics Inc.), 12 March 2009 (12.03.2009), particularly, claims; examples & WO 2007/037611 A1 & KR 10-0617467 B1 & CN 101326290 A	1-21
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 May, 2011 (17.05.11)		Date of mailing of the international search report 31 May, 2011 (31.05.11)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/058094

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2009-532035 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO.), 10 September 2009 (10.09.2009), particularly, claims; examples & EP 1994412 A & WO 2007/117439 A2 & CA 2647565 A	1-21
Y	JP 2007-37409 A (Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.), 15 February 2007 (15.02.2007), particularly, claims; examples (Family: none)	1-21
E,X	WO 2011/040532 A1 (Kurume University), 07 April 2011 (07.04.2011), entire text (Family: none)	1-21

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2011/058094									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12Q1/68(2006.01)i, C12N15/09(2006.01)i, G01N33/53(2006.01)i											
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C12Q1/68, C12N15/09, G01N33/53											
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2011年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2011年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2011年	日本国実用新案登録公報	1996-2011年	日本国登録実用新案公報	1994-2011年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2011年										
日本国実用新案登録公報	1996-2011年										
日本国登録実用新案公報	1994-2011年										
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAPlus/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)											
C. 関連すると認められる文献											
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号									
X	SHI W. et al., Illumina WG-6 BeadChip strips should be normalized	12-16, 18									
-	separately, BMC Bioinformatics, 2009, Vol.10, No.372, 全文参	-									
Y	照	1-21									
Y	野口正典, 7. テーラーメイド型ペプチドワクチン療法による再燃 前立腺癌の治療成績, 泌尿器外科, 2008, Vol.21, No.8, p.1043-1047, 特に、II, III の項参照	1-21									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。		<input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。									
* 引用文献のカテゴリー 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願		の日の後に公表された文献 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」同一パテントファミリー文献									
国際調査を完了した日 17.05.2011		国際調査報告の発送日 31.05.2011									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 北村 悠美子	4N 4501								
		電話番号 03-3581-1101 内線	3488								

国際調査報告		国際出願番号 PCT/J P 2 0 1 1 / 0 5 8 0 9 4
C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2009-509525 A (デジタルジェノミクスインコーポレーション) 2009.03.12, 特に、特許請求の範囲、実施例等参照 & WO 2007/037611 A1 & KR 10-0617467 B1 & CN 101326290 A	1-21
Y	JP 2009-532035 A (プリストルーマイヤーズ スクイブ カンパニ ー) 2009.09.10, 特に、特許請求の範囲、実施例等参照 & EP 1994412 A & WO 2007/117439 A2 & CA 2647565 A	1-21
Y	JP 2007-37409 A (大鵬薬品工業株式会社) 2007.02.15, 特に、特許 請求の範囲、実施例等参照 (ファミリーなし)	1-21
E, X	WO 2011/040532 A1 (学校法人 久留米大学) 2011.04.07, 全文参照 (ファミリーなし)	1-21

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74)代理人 100146259

弁理士 橋本 諭志

(72)発明者 伊東 恭悟

福岡県久留米市旭町6-7番地 久留米大学内

(72)発明者 野口 正典

福岡県久留米市旭町6-7番地 久留米大学内

(72)発明者 久原 哲

福岡県福岡市東区箱崎六丁目1-0番1号 国立大学法人九州大学内

(72)発明者 山田 亮

福岡県久留米市旭町6-7番地 久留米大学内

(72)発明者 七條 茂樹

福岡県久留米市旭町6-7番地 久留米大学内

(72)発明者 小松 誠和

福岡県久留米市旭町6-7番地 久留米大学内

(72)発明者 田代 康介

福岡県福岡市東区箱崎六丁目1-0番1号 国立大学法人九州大学内

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA12 CA01 CA12 HA08 HA12

4B063 QA01 QA18 QA19 QQ02 QQ42 QQ53 QR08 QR32 QR36 QR42

QR50 QR55 QR62 QS25 QS28 QS34 QS36 QS39 QX02

(注)この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。

专利名称(译)	用于预测免疫疗法对癌症患者的治疗效果的方法，用于所述方法的基因组和试剂盒		
公开(公告)号	JPWO2012002011A1	公开(公告)日	2013-08-22
申请号	JP2012522484	申请日	2011-03-30
[标]申请(专利权)人(译)	久留米大学 国立大学法人九州大学 久留米研究公园		
申请(专利权)人(译)	学校法人 久留米大学 国立大学法人九州大学 久留米有限公司研究园		
[标]发明人	伊東恭悟 野口正典 久原哲 山田亮 七條茂樹 小松誠和 田代康介		
发明人	伊東 恭悟 野口 正典 久原 哲 山田 亮 七條 茂樹 小松 誠和 田代 康介		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N33/53		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/106 C12Q2600/158 G01N33/574 G01N2800/52 C12Q1/6837 C12Q1/686		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A G01N33/53.M		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/CA01 4B024/CA12 4B024/HA08 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR36 4B063/QR42 4B063/QR50 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QS39 4B063/QX02		
代理人(译)	山田卓司		
优先权	2010147797 2010-06-29 JP		
其他公开文献	JPWO2012002011A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供用于预测免疫疗法对癌症患者的治疗效果的基因集。还提供了用于确定免疫疗法是否有效的方法，包括定量构成基因组的每个基因的表达水平。该确定方法可用于确定癌症患者的治疗方案。

発行日 平成25年8月22日(2013. 8. 22)

(43) 国際公開日 平成24年1月5日(2012. 1. 5)

(51) Int. Cl.	F I			テームコード(参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	Z N A A		4 B O 2 4
C 1 2 N 15/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A		4 B O 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53	M		

		審査請求 未請求	予備審査請求 有	(全 58 頁)
出願番号	特願2012-522484 (P2012-522484)	(71) 出願人	599045903	
(21) 国際出願番号	PCT/JP2011/058094		学校法人 久留米大学	
(22) 国際出願日	平成23年3月30日(2011. 3. 30)		福岡県久留米市旭町 6 7 番地	
(31) 優先権主張番号	特願2010-147797 (P2010-147797)	(71) 出願人	504145342	
(32) 優先日	平成22年6月29日(2010. 6. 29)		国立大学法人九州大学	
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		福岡県福岡市東区箱崎六丁目 1 0 番 1 号	
		(71) 出願人	394009245	
			株式会社久留米リサーチ・パーク	
			福岡県久留米市百年公園 1 番 1 号	
		(74) 代理人	100062144	
			弁理士 青山 潔	
		(74) 代理人	100101454	
			弁理士 山田 卓二	
		(74) 代理人	100106518	
			弁理士 松谷 道子	
				最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 がん患者に対する免疫療法の治療効果の予測方法、ならびに該方法に用いる遺伝子セットおよびキット