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

特許第5688497号
(P5688497)

(45)発行日　平成27年3月25日(2015.3.25)　(24)登録日　平成27年2月6日(2015.2.6)

(51)Int.Cl.		F I		
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A
G01N 33/53	(2006.01)	G01N	33/53	D
G01N 37/00	(2006.01)	G01N	33/53	M
		G01N	37/00	102

請求項の数 14　(全 58 頁)

(21)出願番号　特願2005-291588(P2005-291588)
(22)出願日　平成17年10月4日(2005.10.4)
(65)公開番号　特開2007-97486(P2007-97486A)
(43)公開日　平成19年4月19日(2007.4.19)
審査請求日　平成20年9月30日(2008.9.30)
審判番号　不服2012-12635(P2012-12635/J1)
審判請求日　平成24年7月3日(2012.7.3)

(73)特許権者　504139662
国立大学法人名古屋大学
愛知県名古屋市千種区不老町１番
(73)特許権者　304031427
愛知県
愛知県名古屋市中区三の丸三丁目１番２号
(73)特許権者　500535301
一般社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム
東京都江東区青海二丁目４番３２号
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100118773
弁理士　藤田　節

最終頁に続く

(54)【発明の名称】肺腺癌患者の術後予後を予測するための方法及び組成物

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測する方法であって、該方法が、肺腺癌を、その亜型であるＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型のいずれかに識別し、次いでＴＲＵ型であると識別された場合、ＴＲＵ型肺腺癌をさらにＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかに識別し、ＴＲＵ-ｂ型であれば術後予後が良好である、或いは、ＴＲＵ-ａ型又は非ＴＲＵ型であれば術後予後が不良であると評価することを含み、ここで、該ＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂ型については、該患者の生物学的試料中の下記の各遺伝子セットから選択された１又は２以上の遺伝子の発現レベルを測定し、非ＴＲＵ型肺腺癌と比べてＴＲＵ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ型肺腺癌であると識別し、一方、ＴＲＵ型肺腺癌と比べて非ＴＲＵ型肺腺癌において該遺伝子セットの非ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌を非ＴＲＵ型肺腺癌であると識別する、或いは、ＴＲＵ-ｂ型肺腺癌と比べてＴＲＵ-ａ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ-ａ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ-ａ型肺腺癌であると識別し、一方、ＴＲＵ-ａ型肺腺癌と比べてＴＲＵ-ｂ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ-ｂ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ-ｂ型肺腺癌であると識別する、ならびに、
該ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、配列番号１～１９５のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子で

ある、
該非ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、配列番号１９６～２５５,２５７～２８０,２８２～２８６のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、
該ＴＲＵ-ａ型に属する遺伝子セットが、配列番号４，２，９，３，５，８，１６，３７，７，１８，１０，３１，１２，２８７，２８，２８８，８１，２６，４１，６，２４，５４，３４，２１，２８９，１０５，３８，２９０，５８，１２７，３２，１２８，３５，５３，８３，２７，６２，１５，１０６，２２，２９１，７４，１６１，１８７，３６，７６，４８，３０，１５７，１１４，４６，５９，４３，７５，１３４，９７，１５４，２９２，２９３，１１０，６３，４２，４５，１７９，１２６，１２３，７１，３３，１７０，１３３，８６，５５，４４，１９０，１５６，１８６，４９，８５，５２，１４１，１２５，９１，１８０，９６，１８３，１６０，６７，１００，２９４，８２，８８，９５，９３，１２４，１６４，１０２，１１７，２９５，２９６，１１６，２９７，１６５，１７５，１３７，２９８，１１９，１０３，２９９，３００，３０１，１７７，１４３，３０２，３０３，３０４，８０，３０５，３０６，３０７のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、および、
該ＴＲＵ-ｂ型に属する遺伝子セットが、配列番号３０８～３１６，１６８，３１７～３３４，１７８，３３５～３４３，７０，１７３，３４４～３４９，１４２，３５０，３５１，１８８のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、
ことを特徴とする前記方法。
【請求項２】
前記遺伝子の発現レベルが、該遺伝子に対応する核酸又はタンパク質の存在もしくは量を測定することによって決定される、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記遺伝子の発現レベルが、ハイブリダイゼーション法によって測定される、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項４】
前記ハイブリダイゼーション法が、マイクロアレイ法又はブロット法である、請求項３に記載の方法。
【請求項５】
前記遺伝子の発現レベルが、免疫学的方法によって測定される、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項６】
前記免疫学的方法が、前記遺伝子によってコードされるタンパク質又はその断片に対する特異抗体と標的タンパク質との免疫学的複合体を検出することを含む、請求項５に記載の方法。
【請求項７】
前記ＴＲＵ型肺腺癌において、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）遺伝子が突然変異を含む場合、野生型ＥＧＦＲ遺伝子を含む肺腺癌と比べて患者の術後予後が不良であると予測することをさらに含む、請求項１～６のいずれか１項に記載の方法。
【請求項８】
肺腺癌を、ＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型のいずれかの亜型に分類し、次いでＴＲＵ型をＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型に分類する方法であって、該方法が、患者の生物学的試料中の下記の各遺伝子セットから選択された１又は２以上の遺伝子の発現レベルを測定し、非ＴＲＵ型肺腺癌と比べてＴＲＵ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ型肺腺癌に分類し、一方、ＴＲＵ型肺腺癌と比べて非ＴＲＵ型肺腺癌において該遺伝子セットの非ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌を非ＴＲＵ型肺腺癌に

分類する、或いは、ＴＲＵ-ｂ型肺腺癌と比べてＴＲＵ-ａ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ-ａ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ－ａ型肺腺癌に分類し、一方、ＴＲＵ-ａ型肺腺癌と比べてＴＲＵ-ｂ型肺腺癌において該遺伝子セットのＴＲＵ-ｂ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいという指標を用いて肺腺癌をＴＲＵ－ｂ型肺腺癌に分類することを含み、ただし、

（ａ）該ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、配列番号１～１９５のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、

（ｂ）該非ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、配列番号１９６～２５５,２５７～２８０,２８２～２８６のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、

（ｃ）該ＴＲＵ－ａ型に属する遺伝子セットが、配列番号４，２，９，３，５，８，１６，３７，７，１８，１０，３１，１２，２８７，２８，２８８，８１，２６，４１，６，２４，５４，３４，２１，２８９，１０５，３８，２９０，５８，１２７，３２，１２８，３５，５３，８３，２７，６２，１５，１０６，２２，２９１，７４，１６１，１８７，３６，７６，４８，３０，１５７，１１４，４６，５９，４３，７５，１３４，９７，１５４，２９２，２９３，１１０，６３，４２，４５，１７９，１２６，１２３，７１，３３，１７０，１３３，８６，５５，４４，１９０，１５６，１８６，４９，８５，５２，１４１，１２５，９１，１８０，９６，１８３，１６０，６７，１００，２９４，８２，８８，９５，９３，１２４，１６４，１０２，１１７，２９５，２９６，１１６，２９７，１６５，１７５，１３７，２９８，１１９，１０３，２９９，３００，３０１，１７７，１４３，３０２，３０３，３０４，８０，３０５，３０６，３０７のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、

（ｄ）該ＴＲＵ-ｂ型に属する遺伝子セットが、配列番号３０８～３１６，１６８，３１７～３３４，１７８，３３５～３４３，７０，１７３，３４４～３４９，１４２，３５０，３５１，１８８のヌクレオチド配列、又は該ヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子である、

ことを含む前記方法。

【請求項９】

前記遺伝子の発現レベルが、ハイブリダイゼーション法によって測定される、請求項８に記載の方法。

【請求項１０】

前記ハイブリダイゼーション法が、マイクロアレイ法又はブロット法である、請求項９に記載の方法。

【請求項１１】

配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１のヌクレオチド配列又はその配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子の発現を検出することができる複数の核酸であって、

（１）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列、

（２）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列、

（３）前記（１）又は（２）のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

（４）前記（１）、（２）又は（３）のいずれかのヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列、並びに、

（５）前記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列の１５塩基から全塩基数未満の部分配列、

からなる群から選択される配列を有する該複数の核酸、或いは該遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体又はそのタンパク質結合断片の複数、を含む、請求項１～１

０のいずれか１項に記載の方法によって、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するための組成物。

【請求項１２】

配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１のヌクレオチド配列又はその配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子の発現を検出することができる複数の核酸であって、

（１）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列、

（２）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列、

（３）前記（１）又は（２）のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

（４）前記（１）、（２）又は（３）のいずれかのヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列、並びに、

（５）前記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列の１５塩基から全塩基数未満の部分配列、

からなる群から選択される配列を有する該複数の核酸、或いは該遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体又はそのタンパク質結合断片の複数、を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法によって、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するためのキット。

【請求項１３】

配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１のヌクレオチド配列又はその配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子の発現を検出することができる複数の核酸であって、

（１）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列、

（２）配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１に示されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列、

（３）前記（１）又は（２）のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

（４）前記（１）、（２）又は（３）のいずれかのヌクレオチド配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列、並びに、

（５）前記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列の１５塩基から全塩基数未満の部分配列、

からなる群から選択される配列を有する該複数の核酸を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法によって、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するためのＤＮＡチップ。

【請求項１４】

配列番号１～２５５,２５７～２８０,２８２～３５１のヌクレオチド配列又はその配列と９０％以上の配列同一性を有するヌクレオチド配列からなる遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体又はそのタンパク質結合断片の複数を含む、請求項１～１０のいずれか１項に記載の方法によって、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するためのタンパク質アレイ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、肺腺癌患者の術後予後を予測するための方法及び組成物に関する。

本発明はまた、肺腺癌をその亜型に分類する方法に関する。

【背景技術】
【０００２】
肺癌は、先進諸国において癌関連死亡原因のトップである（非特許文献１、２）。現在、腫瘍の分類は、大きく、顕微鏡観察による組織学的特徴に基づいているが、一方、特定の組織型の中でさえ臨床判定の著しい変化がときどき明らかとなるし、また腺癌が最も高い度合いの形態学的及び臨床的多様性を示すことが知られている（非特許文献３）。それゆえ、非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）、特に腺癌、を分類するためのより詳細で精確かつ目的にあった手段が、病因のより良い理解だけでなく今日の不適切な診断能を改善してより有効な治療法を実施可能にするために大いに期待されている。
【０００３】
最近のマイクロアレイ技術の開発は、種々の臨床パラメーターと、個々の症例の遺伝子発現プロファイルとを相関させることを可能にしている（非特許文献４～９）。今日まで、本発明者らのグループを含む種々の他のグループが、発現プロファイリングがＮＳＣＬＣの形態学的分類を再現できることを報告しているし、また、いくつかの研究により、腺癌がさらに亜分類可能であることが示されている（非特許文献１０～１３）。
【０００４】
しかしながら、これまで報告されたこれらの亜分類の結果は、互いにかなり食い違っており、それらの知見に単純に順応することは難しいし、また何らかの明確な結論を得ることも難しい。従来の発現プロファイリング研究は、発現プロファイルと基本的な遺伝子変化との関係について非常に少ない情報しか提供しないということも指摘しなければならない（非特許文献１４）。そのような情報は、本来、肺癌の病因を明らかにするうえで重要であることが知られている。
【０００５】
ところで、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）の活性化型突然変異の発見は、肺癌研究の分野で今日最も注目に値する知見の１つである（非特許文献１５及び１６）。ＥＧＦＲ変異は肺腺癌のサブセットに存在し（非特許文献１５～２０）、この突然変異を有する腫瘍がゲフィチニブ(ｇｅｆｉｔｉｎｉｂ；選択的ＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤；例えばＩｒｅｓｓａ^{TM})に高度に感受性であることが示されている（非特許文献１５～１７、１９）。ゲフィチニブに対する良好な臨床応答は、日本人や他のアジア民族の女性の非喫煙腺癌患者において最も高頻繁に観察されている（非特許文献２１、２２）。本発明者らはまた、ＥＧＦＲ変異が、末梢気道上皮細胞由来と形態学的に考えられる肺腺癌、いわゆる終末気道単位（ｔｅｒｍｉｎａｌ ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ ｕｎｉｔ； ＴＲＵ）型腺癌で高頻度に検出されることを報告した（非特許文献２３、２４）。
【０００６】
【非特許文献１】Ｍｉｎｎａ ＪＤら（編集）, Ｈａｒｒｉｓｏｎ’ｓ Ｐｒｉｎｃｉｐａｌｓ ｏｆ Ｉｎｔｅｒｎａｌ Ｍｅｄｉｃｉｎｅ（１６版）, ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ, ２００１, ｐｐ５０６－５１６
【非特許文献２】Ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ ａｎｄ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ, Ｍｉｎｉｓｔｅｒ’ｓ Ｓｅｃｒｅｔａｒｉａｔ: Ｖｉｔａｌ Ｓｔａｔｉｓｔｉｃｓ ｏｆ Ｊａｐａｎ ２００１ Ｖｏｌ. ３, Ｍｉｎｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ, Ｌａｂｏｒ ａｎｄ Ｗｅｌｆａｒｅ, Ｊａｐａｎ, ２００３, ｐｐ３８４－４１１
【非特許文献３】Ｔｒａｖｉｓ ＷＤら, Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ ａｎｄ ｇｅｎｅｔｉｃｓ ｏｆ ｔｕｍｏｒｓ ｏｆ ｔｈｅ ｌｕｎｇ, ｐｌｅｕｒａ, ｔｈｙｍｕｓ ａｎｄ ｈｅａｒｔ, Ｗｏｒｌｄ Ｈｅａｌｔｈ Ｏｒｇａｎｉｚａｔｉｏｎ ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｔｕｍｏｒｓ, Ｌｙｏｎ, ＩＡＲＣ ｐｒｅｓｓ, ２００４
【非特許文献４】Ｐｅｒｏｕ ＣＭら, ｎａｔｕｒｅ ４０６：７４７－５２, ２０００
【非特許文献５】Ａｌｉｚａｄｅｈ ＡＡら, Ｎａｔｕｒｅ ４０３：５０３－１１,

２０００
【非特許文献６】Ｓｈｉｐｐ ＭＡら，Ｎａｔ Ｍｅｄ ８：６８－７４，２００２
【非特許文献７】Ｓｉｎｇｈ Ｄら，Ｃａｎｃｅｒ Ｃｅｌｌ １：２０３－９，２００２
【非特許文献８】ｖａｎ’ｔ Ｖｅｅｒ ＬＪら，Ｎａｔｕｒｅ ４１５：５３０－６，２００２
【非特許文献９】Ｈｅｄｅｎｆａｌｋ Ｉら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １００：２５３２－７，２００３
【非特許文献１０】Ｇａｒｂｅｒ ＭＥら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：１３７８４－９，２００１
【非特許文献１１】Ｂｈａｔｔａｃｈａｒｊｅｅ Ａら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：１３７９０－５，２００１
【非特許文献１２】Ｂｅｅｒ ＤＧら，Ｎａｔ Ｍｅｄ ８：８１６－２４，２００２
【非特許文献１３】Ｔｏｍｉｄａ Ｓら，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ ２３：５３６０－７０，２００４
【非特許文献１４】Ｍｅｙｅｒｓｏｎ Ｍら，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２３：３２１９－２６，２００５
【非特許文献１５】Ｐａｅｚ ＪＧら，Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０４：１４９７－５００，２００４
【非特許文献１６】Ｌｙｎｃｈ ＴＪら，Ｎ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ３５０：２１２９－３９，２００４
【非特許文献１７】Ｐａｏ Ｗら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ １０１：１３３０６－１１，２００４
【非特許文献１８】Ｋｏｓａｋａ Ｔら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ６４：８９１９－２３，２００４
【非特許文献１９】Ｍｉｔｓｕｄｏｍｉ Ｔら，Ｊ ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２３：２５１３－２０，２００５
【非特許文献２０】Ｓｈｉｇｅｍａｔｓｕ Ｈら，Ｊ Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ ９７：３３９－４６，２００５
【非特許文献２１】Ｆｕｋｕｏｋａ Ｍら，Ｊ Ｃｌｉｎ Ｏｎｃｏｌ ２１：２２３７－４６，２００３
【非特許文献２２】Ｋｒｉｓ ＭＧら，Ｊａｍａ ２９０：２１４９－５８，２００３
【非特許文献２３】Ｙａｔａｂｅ Ｙら，Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ ２９：６３３－６３９，２００５
【非特許文献２４】Ｙａｔａｂｅ Ｙら，Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ２６：７６７－７３，２００２

【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
従来、実際の臨床の場においては、ヒト肺癌は臨床的・病理学的な病型分類に基づいて診断されていた。すなわち、従来の診断は、顕微鏡観察による形態学的診断に頼ることとなるため、客観性に欠けるとともに、患者の予後についての情報はきわめて限定的であった。また、網羅的・系統的発現プロファイルに基づく診断の試みも、肺癌の発生、進展に密接に関わる遺伝子異常がもっているはずの情報を、発現プロファイルと統合的に解析し有用な形で診断に取り込むことができていなかった。
【０００８】
このような状況において、本発明者らは、９０例の腺癌を含む１４９のＮＳＣＬＣ症例において、広範囲の発現プロファイルと、ＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓの突然変異状

態とを同時に分析し、遺伝子的かつ臨床病理学的にともに関連する発現プロファイルによって規定される分類法を確立することを目的とした。

【０００９】

さらに、本発明者らは、この分類法を用いて、肺腺癌で同定された２つの主要な亜型の１つ（ＴＲＵ型）において、有意に高い罹患率と、ＥＧＦＲ突然変異の明瞭な予後への影響を明らかにすることを目的とした。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

本願において、本発明者らはヒト肺癌の網羅的な遺伝子解析によって同定した４つの遺伝子セットを見出し、これらのセットを用いることによって肺腺癌が、その発現プロファイルに基づいて客観的に臨床的にも分子生物学的にも意味のある２つの主要な群に大別でき、さらにそのうちうちの１つの群は２つの亜群に分けられることを見出した。

【００１１】

このような知見に基づいて、さらに研究を進めた結果、これらの遺伝子セットを用いることによって、肺腺癌をもつ患者の術後予後の予測を可能とするとともに、肺癌の発生・進展に重要な役割を担うＥＧＦＲ遺伝子の変異と予後との関連性を検出することに成功した。このような新しい知見により、ＮＳＣＬＣ、特に肺腺癌の治療法の決定に重要な情報を提供することが可能になった。

【００１２】

したがって、本発明は、要約すると、以下の特徴を有する。

【００１３】

本発明は、第１の態様において、　肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測する方法であって、該方法が、肺腺癌を、その亜型であるＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型のいずれかに識別し、次いでＴＲＵ型であると識別された場合、ＴＲＵ型肺腺癌をさらにＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかに識別し、ＴＲＵ-ｂ型であれば術後予後が良好である、或いは、ＴＲＵ-ａ型又は非ＴＲＵ型であれば術後予後が不良であると判定することを含み、ここで、該ＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂ型は、該患者の生物学的試料中の下記の対応する遺伝子セットの１又は２以上の遺伝子について、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、又はＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間、の相対的発現レベルの差を測定することによって識別される、ならびに、

該ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、下記のユニジーン（ＵｎｉＧｅｎｅ）登録番号：Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.62604、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.482417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.103983、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、Hs.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.520627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、Hs.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.153299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.173656、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、Hs.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs

.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.501684、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、Hs.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.314261、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、Hs.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体である、

該非ＴＲＵ型に属する遺伝子セットが、下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.500761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.368641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.511776、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、Hs.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.505575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082、Hs.471873、Hs.24583を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体である、

該ＴＲＵ-ａ型に属する遺伝子セットが、下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.220629、Hs.153322、Hs.127821、Hs.218366、Hs.436996、Hs.247824、Hs.550526、Hs.62604、Hs.104555、Hs.465720、Hs.480281、Hs.495480、Hs.545862、Hs.1051、Hs.133062、Hs.115263、Hs.349470、Hs.495774、Hs.155538、Hs.435759、Hs.128041、Hs.465643、Hs.169943、Hs.534496、Hs.379010、Hs.184507、Hs.469359、Hs.2012、Hs.109358、Hs.438016、Hs.326561、Hs.367956、Hs.271285、Hs.176626、Hs.137556、Hs.437806、Hs.240457、Hs.533055、Hs.532492、Hs.85962、Hs.268698、Hs.520627、Hs.524479、Hs.449585、Hs.158339、Hs.522836、Hs.279580、Hs.444535、Hs.446388、Hs.149769、Hs.513779、Hs.103983、Hs.512756、Hs.348012、Hs.467529、Hs.434374、Hs.389311、Hs.49653、Hs.424542、Hs.436667、Hs.516036、Hs.533526、Hs.463079、Hs.310456、Hs.125950、Hs.351571、Hs.478930、Hs.483906、Hs.259563、Hs.249196、Hs.412792、Hs.183390、Hs.87191、Hs.171995、Hs.117545、Hs.554891、Hs.351544、Hs.368353、Hs.482417、Hs.126561、Hs.154224、Hs.232696、Hs.520319、Hs.153299、Hs.449621、Hs.502092、Hs.537722、Hs.127189、Hs.525589、Hs.476231、Hs.527095、Hs.511839、Hs.372773、Hs.112087、Hs.458252、Hs.181973、Hs.289319、Hs.25333、Hs.513075、Hs.356820、Hs.549577、Hs.380222、Hs.46700、Hs.129227、Hs.100431、Hs.129493、Hs.173656、Hs.9613、Hs.301478、Hs.553740、Hs.151219、Hs.369385、Hs.525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.355236、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体である、および、

該ＴＲＵ-ｂ型に属する遺伝子セットが、下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.31409、Hs.524513、Hs.253495、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.104476、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.279611、Hs.496414、Hs.436142、Hs.282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.90250、Hs.436317、Hs.60371、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs

.116459、Hs.131673、Hs.42091、Hs.32417、Hs.75812、Hs.355394を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体である、
ことを特徴とする、前記方法を提供する。

【００１４】

本明細書中、ＴＲＵ（終末気道単位；ｔｅｒｍｉｎａｌ　ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ　ｕｎｉｔ）とは、肺のなかでもとくに末梢に位置する気道上皮からなる単位であり、それらの構成単位から発生した或いはそれらと類似の性格を持つ腺癌をＴＲＵ型腺癌と称する。また、非ＴＲＵ型腺癌は、ＴＲＵ型以外の亜型を指す。

【００１５】

本明細書中、術後予後とは、肺腺癌の手術後の患者の予後を、代表的には術後５年時点での生存率で判定することを意味する。予後は、癌の転移と深く関係しており、予後不良とは、癌の浸潤性、転移性又は進行度が高いことを意味し、一方、予後良好又は予後良とは、そのような浸潤性、転移性又は進行度が低いことを意味する。

【００１６】

本明細書中、前記遺伝子の変異体とは、例えば突然変異、遺伝子多型、選択的スプライシングなどの生物学的事象、遺伝暗号の縮重などに起因して生じる変異体を包含する。変異体は、前記遺伝子の本来のヌクレオチド配列上に１又は複数の置換、欠失、付加、挿入などの変異を有するものである。

【００１７】

本明細書中、同族体とは、生物種が異なるなどの理由のために前記遺伝子と部分的に配列が異なるが、該遺伝子と同一の生物学的機能又は作用を有することから同一のファミリーに属する核酸を指す。

【００１８】

変異体及び同族体は、前記対応する遺伝子の各々とヌクレオチドレベルで７０％以上、好ましくは８０％以上、より好ましくは９０％以上、９５％以上、９７％以上、９８％以上、又は９９％以上の同一性を有する。ここで、同一性（％）は、ギャップを導入した公知のＢＬＡＳＴプラグラムを用いて決定することができる。一般に、全塩基数に対する一致した塩基数の百分率として同一性（％）を算出できる。

【００１９】

本明細書中、誘導体とは、塩基の化学的修飾を含む前記遺伝子を指し、そのような化学的修飾には、例えばメチル化、アセチル化、チオ化、カルボキシメチル化、メトキシ化などが含まれる。

【００２０】

本明細書中、患者とは、ヒト、イヌ、ネコを含む哺乳動物を指し、好ましい哺乳動物はヒトである。

【００２１】

本発明の一の実施形態において、前記ＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.62604、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.482417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.103983、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、Hs.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.520627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、Hs.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.1

53299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.173656、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、Hs.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.501684、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、Hs.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.314261、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、Hs.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443、
Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.500761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.368641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.511776、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、Hs.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.505575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082、Hs.471873、Hs.24583、
Hs.1051、Hs.115263、Hs.379010、Hs.2012、Hs.268698、Hs.49653、Hs.424542、Hs.525589、Hs.25333、Hs.513075、Hs.549577、Hs.100431、Hs.9613、Hs.301478、 Hs.553740、Hs.525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055、
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.31409、Hs.524513、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.104476、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.496414、Hs.436142、Hs.282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.60371、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs.116459、Hs.131673、Hs.32417、Hs.75812
を有する遺伝子はそれぞれ、配列番号１～３５１に示される配列又はその相補的配列を含むことを特徴とする。

【００２２】

別の実施形態において、 ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ型腺癌と判定し、一方、上記非ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌を非ＴＲＵ型腺癌と判定する。

【００２３】

あるいは、ＴＲＵ－ａ型腺癌とＴＲＵ－ｂ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ－ａ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ａ型腺癌と判定し、一方、上記ＴＲＵ－ｂ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ｂ型腺癌と判定する。

【００２４】

そのような発現レベルの差は、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、或いはＴＲＵ-ａ

型腺癌とＴＲＵ型-ｂ腺癌の間、の相対的な差であるため、一方が他方に比べて大きいか小さいかで決まる。好ましくは、そのような差は１．５倍以上、より好ましくは２．０倍以上である。

【００２５】

別の実施形態において、前記遺伝子の発現レベルが、該遺伝子に対応する核酸又はタンパク質の存在もしくは量を測定することによって決定される。

【００２６】

本明細書中、核酸は、ＤＮＡ又はＲＮＡのいずれかであり、例えば各遺伝子の転写産物（ｍＲＮＡ）、ｃＤＮＡ、ｃＲＮＡなどが含まれる。

【００２７】

また、タンパク質は、各遺伝子によってコードされるタンパク質、その変異体又はその断片を意味する。変異体は、スプライシングや多型性に基づく変異体を含む。断片は、生体内でプロテアーゼやペプチダーゼの作用によって自然発生的に生じたタンパク質断片であり、目的タンパク質の断片であるとして識別できるならば、いずれのサイズの断片も包含する。断片の好ましいサイズは、２０以上のアミノ酸数、より好ましくは３０以上のアミノ酸数、さらに好ましくは５０以上のアミノ酸数である。

【００２８】

さらに別の実施形態において、前記遺伝子の発現レベルは、ハイブリダイゼーション法や遺伝子増幅法によって測定することができる。

【００２９】

ハイブリダイゼーション法には、例えばマイクロアレイ法、ブロット法、例えばノーザンブロットもしくはサザンブロット法、更にはノーザンもしくはサザンハイブリダイゼーション法、ｉｎ　ｓｉｔｕｅハイブリダイゼーションなどが含まれる。好ましいハイブリダイゼーション法は、マイクロアレイ法、例えばＤＮＡマイクロアレイ、オリゴヌクレオチドマイクロアレイ及びタンパク質マイクロアレイである。遺伝子増幅法には、逆転写酵素でＲＮＡから変換したｃＤＮＡをポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）法や、ＩＣＡＮ法、ＬＡＭＰ法、ＰＡＬＳＡＲ法などが含まれる。好ましい遺伝子増幅法はＰＣＲ法である。

【００３０】

別の実施形態において、前記遺伝子の発現レベルは、代替的に、免疫学的方法によって測定することができる。

【００３１】

免疫学的方法では、前記遺伝子によってコードされるタンパク質又はその断片に対する特異抗体と標的タンパク質との免疫学的複合体を検出することを含む。ここで、タンパク質又はその断片は、好適には、遺伝子バンクに登録された配列に基づく慣用のｃＤＮＡクローニング法と発現ベクター/宿主系を利用するタンパク合成法とによって得ることができる。免疫学的方法には、酵素免疫測定法（ＥＩＡ、ＥＬＩＳＡなど）、蛍光抗体法、放射性免疫測定法、凝集法、比濁法などが含まれる。また、抗原-抗体反応は、均一又は不均一、或いは、固相又は非固相のいずれの条件で行うこともできるが、固相法による反応が望ましい。さらに、標識二次抗体を使用するサンドイッチ法も好ましく使用される。

【００３２】

さらに別の実施形態において、本発明の予後予測法には、前記ＴＲＵ型肺腺癌において、上皮成長因子受容体（ＥＧＦＲ）遺伝子が突然変異を含む場合、野生型ＥＧＦＲ遺伝子を含む肺腺癌と比べて患者の術後予後が不良であると予測することをさらに含むことができる。

【００３３】

ＥＧＦＲ遺伝子に突然変異が含まれるかどうかは、例えばＫｏｓａｋａ　Ｔら，Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　６４：８９１９－２３，２００４（非特許文献１８）、Ｍｉｔｓｕｄｏｍｉ　Ｔら，　Ｊ　ｃｌｉｎ　Ｏｎｃｏｌ　２３：２５１３－２０，２００５（非特許文献１９）などに記載される方法によって検出することができる。簡単に説明すると、そのような方法は当該遺伝子領域をＰＣＲ法を用いて遺伝子増幅して変異をゲル電気泳動法や

塩基配列の決定などを用いた検出が可能である。

【００３４】

本発明はまた、第２の態様において、肺腺癌を、ＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型のいずれかの亜型に分類し、次いでＴＲＵ型腺癌をＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型に分類する方法であって、該方法が、患者の生物学的試料中の下記の対応する遺伝子セットの１又は２以上の遺伝子について、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、又はＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間、の相対的発現レベルの差を測定し、該発現レベルの差を示す遺伝子が、

（ａ）下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：

Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.62604、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.482417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.103983、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、Hs.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.520627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、Hs.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.153299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.173656、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、Hs.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.501684、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、Hs.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.314261、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、Hs.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体からなる遺伝子セット中の遺伝子である場合、該肺腺癌がＴＲＵ型であると決定する、あるいは、

（ｂ）下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：

Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.500761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.368641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.511776、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、Hs.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.505575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082

、Hs.471873、Hs.24583を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体からなる遺伝子セット中の遺伝子である場合、該肺腺癌が非ＴＲＵ型であると決定する、あるいは、

（ｃ）下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.220629、Hs.153322、Hs.127821、Hs.218366、Hs.436996、Hs.247824、Hs.550526、Hs.62604、Hs.104555、Hs.465720、Hs.480281、Hs.495480、Hs.545862、Hs.1051、Hs.133062、Hs.115263、Hs.349470、Hs.495774、Hs.155538、Hs.435759、Hs.128041、Hs.465643、Hs.169943、Hs.534496、Hs.379010、Hs.184507、Hs.469359、Hs.2012、Hs.109358、Hs.438016、Hs.326561、Hs.367956、Hs.271285、Hs.176626、Hs.137556、Hs.437806、Hs.240457、Hs.533055、Hs.532492、Hs.85962、Hs.268698、Hs.520627、Hs.524479、Hs.449585、Hs.158339、Hs.522836、Hs.279580、Hs.444535、Hs.446388、Hs.149769、Hs.513779、Hs.103983、Hs.512756、Hs.348012、Hs.467529、Hs.434374、Hs.389311、Hs.49653、Hs.424542、Hs.436667、Hs.516036、Hs.533526、Hs.463079、Hs.310456、Hs.125950、Hs.351571、Hs.478930、Hs.483906、Hs.259563、Hs.249196、Hs.412792、Hs.183390、Hs.87191、Hs.171995、Hs.117545、Hs.554891、Hs.351544、Hs.368353、Hs.482417、Hs.126561、Hs.154224、Hs.232696、Hs.520319、Hs.153299、Hs.449621、Hs.502092、Hs.537722、Hs.127189、Hs.525589、Hs.476231、Hs.527095、Hs.511839、Hs.372773、Hs.112087、Hs.458252、Hs.181973、Hs.289319、Hs.25333、Hs.513075、Hs.356820、Hs.549577、Hs.380222、Hs.46700、Hs.129227、Hs.100431、Hs.129493、Hs.173656、Hs.9613、Hs.301478、Hs.553740、Hs.151219、Hs.369385、Hs.525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.355236、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体からなる遺伝子セット中の遺伝子である場合、該肺腺癌がＴＲＵ-ａ型であると決定する、あるいは、

（ｄ）下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.31409、Hs.524513、Hs.253495、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.104476、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.279611、Hs.496414、Hs.436142、Hs.282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.90250、Hs.436317、Hs.60371、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs.116459、Hs.131673、Hs.42091、Hs.32417、Hs.75812、Hs.355394を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体からなる遺伝子セット中の遺伝子である場合、該肺腺癌がＴＲＵ-ｂ型であると決定する、

ことを含む前記方法を提供する。

【００３５】

ここで、ＴＲＵ、非ＴＲＵ、変異体、同族体及び誘導体は、上記と同義である。

また、ここで、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ型腺癌と判定し、一方、上記非ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌を非ＴＲＵ型腺癌と判定する。

【００３６】

さらに、ＴＲＵ－ａ型腺癌とＴＲＵ－ｂ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ－ａ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ａ型腺癌と判定し、一方、上記ＴＲＵ－ｂ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ｂ型腺癌と判定する。

【００３７】

その一の実施形態において、前記ＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.

444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.626
04、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs
.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.48
2417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.10398
3、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、H
s.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.52
0627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470
、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、H
s.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.1
53299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.1736
56、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667
、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、H
s.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154
224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713
、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs
.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.5016
84、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、H
s.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.31426
1、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、
Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151
219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465
、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、H
s.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443、
Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.50
0761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、
Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.3
68641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796
、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.
164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497
741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238
、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.
234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.51177
6、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、H
s.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.50
5575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082
、Hs.471873、Hs.24583、
Hs.1051、Hs.115263、Hs.379010、Hs.2012、Hs.268698、Hs.49653、Hs.424542、Hs.52558
9、Hs.25333、Hs.513075、Hs.549577、Hs.100431、Hs.9613、Hs.301478、Hs.553740、Hs.
525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055、
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.
31409、Hs.524513、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.10447
6、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、
Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.496414、Hs.436142、Hs.
282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.60371
、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs.116459、Hs.131673、Hs.32417、Hs.75812
を有する遺伝子はそれぞれ、配列番号１～３５１に示される配列又はその相補的配列を含むものである。

【００３８】

別の実施形態において、前記遺伝子の発現レベルは、ハイブリダイゼーション法によって測定することができる。

【００３９】
ハイブリダイゼーション法は、上記と同様の方法、例えばマイクロアレイ法、又はノーザンブロットもしくはサザンブロットなどのブロット法を例示することができる。この目的には、マイクロアレイが好ましく使用できる。
【００４０】
本発明は、第３の態様において、下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.62604、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.482417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.103983、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、Hs.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.520627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、Hs.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.153299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.173656、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、Hs.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.501684、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、Hs.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.314261、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、Hs.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443、
Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.500761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.368641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.511776、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、Hs.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.505575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082、Hs.471873、Hs.24583、
Hs.1051、Hs.115263、Hs.379010、Hs.2012、Hs.268698、Hs.49653、Hs.424542、Hs.525589、Hs.25333、Hs.513075、Hs.549577、Hs.100431、Hs.9613、Hs.301478、Hs.553740、Hs.525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055、
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.

31409、Hs.524513、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.104476、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.496414、Hs.436142、Hs.282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.60371、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs.116459、Hs.131673、Hs.32417、Hs.75812
を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体の発現を検出することができる核酸であって、

（１）配列番号１～３５１に示されるヌクレオチド配列、

（２）配列番号１～３５１に示されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列、

（３）前記（１）又は（２）のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

（４）前記（１）、（２）又は（３）のいずれかの配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列、並びに、

（５）前記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列の１５塩基から全塩基数未満の部分配列、

からなる群から選択される配列を有する核酸、或いは該遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体によってコードされるタンパク質又は断片に対する抗体又はその断片、を含む、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するための組成物を提供する。

【００４１】

本発明の組成物は、上記の肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測する方法、ならびに、上記のとおり、肺腺癌を４つの型に分類するために使用されうる。

【００４２】

本明細書中、ストリンジェントな条件とは、少なくとも８０％、好ましくは少なくとも９５％の同一性を有するヌクレオチド配列が互いにハイブリダイズするようなハイブリダイゼーション及び洗浄条件を意味し、例えばマイクロアレイ解析におけるハイブリダイゼーション及び洗浄条件は、１M塩化ナトリウム／０．５％（Ｗ／Ｖ）サルコシル／３０％ホルムアミド中、６０℃、１７時間のハイブリダイゼーション、その後、６×ＳＳＣ／０．００５％（Ｗ／Ｖ）トライトンＸ-１０２溶液中、室温、10分間を一回、さらに、０．１×ＳＳＣ／０．００５％（Ｗ／Ｖ）トライトンＸ-１０２溶液中で０～４℃に保ちながら５分間を一回が洗浄の条件である。ここでの１×ＳＳＣは１５０mM塩化ナトリウムと１５mMクエン酸ナトリウム水溶液(ｐＨ７．２)である。ハイブリダイゼーションについては、Ａｕｓｂｅｌ ＦＭら, Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（3版）Ａ Ｃｏｍｐｅｎｄｉｕｍ ｏｆ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｒｏｍ Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ, １９９５年, Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ, Ｉｎｃ.（米国）に記載されている。

【００４３】

別の実施形態において、本発明はまた、前記組成物を構成する核酸又は抗体もしくはその断片を含む、キット又はＤＮＡマイクロアレイ（ＤＮＡチップともいう）又はタンパク質アレイも提供する。

【発明の効果】

【００４４】

本発明により、肺腺癌をその亜型（ＴＲＵ、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ及びＴＲＵ-ｂ）に分類し、各亜型と術後予後との関係、並びに、ＴＲＵ型の肺腺癌におけるＥＧＦＲ遺伝子変異と術後予後との関係が明らかになった。本発明の方法を用いることによって、術後に再発する可能性の高い患者を選別して生存率を改善するための治療計画を立てることができるし、或いは、肺癌の分子標的薬として臨床使用されているゲフィチニブ（商品名Ｉｒｅｓｓａ）の反応性に関わることが知られるＥＧＦＲ変異をもつ患者の中から特に予後が悪い患者を選別して、ＥＧＦＲ阻害剤による術後治療の対象者として選択することが可能

となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【００４５】

愛知県がんセンター（名古屋）で非小細胞肺癌（ＮＳＣＬＣ）であると診断された症例のうち、９０例の腺癌、３５例の扁平上皮癌、１８例の大細胞癌、４例の扁平上皮腺癌及び２例の大細胞神経内分泌癌を含む１４９症例からの腫瘍標本について、二本鎖ｃＤＮＡ、次いでｃＲＮＡを調製し、１８,１７５個のユニーク遺伝子を結合したマイクロアレイを使用して網羅的・系統的発現プロファイルを得た。さらに、ＣＬＵＳＴＥＲプログラムを用いて、遺伝子と症例の序列的クラスタリングを行い、ＴＲＥＥＶＩＥＷ（Ｅｉｓｅｎ ＭＢら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９５：１４８６３－８，１９９８）により結果を表示し、マイクロアレイの有意解析法（ＳＡＭ）を用いて患者亜型の各々に特異的な遺伝子に評点を付けた（Ｔｕｓｈｅｒ ＶＧら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：５１１６－２１，２００１）。

【００４６】

ジーンオントロジー（ｇｅｎｅ ｏｎｔｏｌｏｇｙ；ＧＯ）（Ａｓｈｂｕｒｎｅｒ Ｍら，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ ２５：２５－９，２０００）を用いた解析により、患者亜型の各々に特異的な遺伝子セットの機能的に異なる生物学的特徴を明らかにした。

【００４７】

さらに、種々の臨床パラメーターと、発現プロファイルで規定される亜型の発現との関係を調べるために、多変量ロジスティック回帰分析を実施し、また、Ｋａｐｌａｎ-Ｍｅｉｅｒ法を用いて術後の生存率を評価した。

【００４８】

その結果、肺腺癌症例が、２つの主要なサブクラスターに分類できることを見出し、これをＴＲＵ型及び非ＴＲＵ型と称した。腺癌内で最も可変的に発現された４,１３８個の転写物を用いて行った分類体系的クラスタリングにより、２つの主要な樹形図（ＴＲＵ型及び非ＴＲＵ型）と、右側樹形図中にさらに２つのサブクラスター（ＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂ型）の存在が明らかになった（図２Ａ）。

【００４９】

これらの２つの主要な発現プロファイルによって規定される肺腺癌亜型、すなわち非ＴＲＵ型及びＴＲＵ型、の樹形図及び生物学的性質について更に知見を得るために、ＳＡＭ分析を行い、０．１％未満の擬陽性率の有意レベルでのプレフィルタリングにおいて、示差的に発現された１,６５７個の遺伝子を抽出した。これらの遺伝子のうち２８６個の遺伝子が、ＴＲＵ型と非ＴＲＵ型において２倍以上の倍率で発現レベルに差異を示した。今回見出した２８６個の遺伝子は、ＴＲＵ型においてより高い発現を有する１９４個の遺伝子と、非ＴＲＵ型においてより高い発現を有する９２個の遺伝子からなっていた。ＴＲＵ型と非ＴＲＵ型との間の基本的な機能の差異を調べた結果、ＴＲＵ型は正常の肺機能との明らかな関係を示したのに対し、非ＴＲＵ型は細胞周期及び増殖との関係を示すことが判明した。

【００５０】

さらにまた、術後の予後について調べた結果、ＴＲＵ-ａ型は非ＴＲＵ型のものと類似した予後不良を示したのに対して、ＴＲＵ-ｂ型の予後は非ＴＲＵ型の予後よりも有意に良好であることが判明した（図４）。同様の基準（０．１％未満の擬陽性率）でＳＡＭ分析を行い、ＴＲＵ－a型とＴＲＵ－ｂ型において２倍以上の倍率で発現レベルに差異を示す１６９個の遺伝子を抽出した。この１６９個の遺伝子は、ＴＲＵ－a型においてより高い発現を有する１１９個の遺伝子と、ＴＲＵ－ｂ型においてより高い発現を有する５０個の遺伝子からなっていた。

【００５１】

ＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ及びＴＲＵ-ｂの各腺癌亜型に属する遺伝子セットをそれぞれ表１～４に示す。表中、Ｕｎｉ-Ｇｅｎｅ ｓｙｍｂｏｌ及びＵｎｉＩＤはそれぞれ、Ｕｎｉ－Ｇｅｎｅデータバンクに登録された遺伝子の記号及び配列の登録番号であ

り、ＧＢＩＤは、ＧｅｎＢａｎｋに登録された遺伝子の配列の登録番号を表す。また同時に、遺伝子名（或いは、タンパク質の名称又は特徴）も表示する。

【００５２】

【表１】

配列番号	プローブ名	GBID	UniID	Uni-Gene symbol	遺伝子名
1	A_23_P17044	NM_198843	Hs.512690	SFTPB	Surfactant, pulmonary-associated protein B
2	A_23_P165582	NM_006226	Hs.153322	PLCL1	Phospholipase C-like 1
3	A_23_P164860	NM_004917	Hs.218366	KLK4	Kallikrein 4
4	A_23_P250347	NM_001744	Hs.220629	CAMK4	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV
5	A_23_P145445	NM_030948.	Hs.436996	PHACTR1	Phosphatase and actin regulator 1
6	A_23_P10104	NM_015963	Hs.435759	THAP4	THAP domain containing 4
7	A_23_P204079	NM_003717	Hs.104555	NPFF	Neuropeptide FF-amide peptide precursor
8	A_23_P102481	NM_005214	Hs.247824	CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
9	A_23_P150648	NM_018722	Hs.127821	KCNQ1DN	KCNQ1 downstream neighbor
10	A_23_P32847	NM_001510	Hs.480281	GRID2	Glutamate receptor, ionotropic, delta 2
11	A_23_P121914	BC041174.1	Hs.529117	CYP2B7P1	Cytochrome P450, family 2
12	AK025387_1735	AK025387	Hs.545862	CDNA FLJ21734 fis	CDNA: FLJ21734 fis
13	A_23_P8812	NM_001442	Hs.391561	FABP4	Fatty acid binding protein 4
14	A_23_P121646	NM_006424	Hs.479372	SLC34A2	Solute carrier family 34 (sodium phosphate), member 2
15	A_23_P41127	NM_003884	Hs.533055	PCAF	P300/CBP-associated factor
16	A_23_P127068	NM_017893	Hs.550526	SEMA4G	Semaphorin 4G
17	A_23_P90125	BC040958	Hs.322854	NAPSB	Napsin B aspartic peptidase pseudogene
18	A_23_P131050	NM_030924	Hs.465720	BGR	Bubblegum related protein
19	A_23_P140454	NM_144565	Hs.356664	NIP	Homolog of Drosophila Numb-interacting protein
20	A_23_P140876	NM_001089	Hs.26630	ABCA3	ATP-binding cassette, member 3
21	A_23_P169569	NM_031296	Hs.534496	RAB33B	member RAS oncogene family
22	A_23_P14971	NM_005329	Hs.85962	HAS3	Hyaluronan synthase 3
23	A_23_P252511	NM_205854	Hs.211267	SFTPG	GSGL541
24	A_23_P65659	NM_024490	Hs.128041	ATP10A	ATPase, Class V, type 10A
25	A_23_P26386	NM_016140	Hs.534458	CGI-38	Brain specific protein
26	A_23_P114118	NM_006089	Hs.495774	SCML2	Sex comb on midleg-like 2
27	AI381505_r_403	XM_378917	Hs.437806	LOC400796	Hypothetical LOC400796
28	A_23_P21519	NM_018401	Hs.133062	STK32B	Serine/threonine kinase 32B

29	AW962764_485	NM_030774	Hs.501758	OR51E2	Olfactory receptor, family 51
30	AI188101_r_349	NM_022784	Hs.444535	FLJ12476	Hypothetical protein FLJ12476
31	A_23_P252796	NM_152421	Hs.495480	MGC20262	Hypothetical protein MGC20262
32	A_23_P166438	NM_030642	Hs.326561	APOL5	Apolipoprotein L, 5
33	AI862477_r_385	NM_024632	Hs.483906	SAP30L	Sin3A associated protein p30-like
34	A_23_P134887	NM_024870	Hs.169943	DEPDC2	DEP domain containing 2
35	AB040943_6703	NM_020882	Hs.271285	COL20A1	KIAA1510 protein
36	A_23_P164566	NM_005024	Hs.158339	SERPINB10	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, member 10
37	AK095829_2272	NM_144569	Hs.62604	SPOCD1	SPOC domain containing 1
38	AI827656_r_387	NM_152660	Hs.469359	FAM76A	Hypothetical protein MGC34648
39	A_23_P215918	NM_203339	Hs.436657	CLU	Clusterin
40	A_23_P207648	NM_032294	Hs.8417	CAMKK1	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase kinase 1, alpha
41	A_23_P204378	NM_020400	Hs.155538	GPR92	G protein-coupled receptor 92
42	A_23_P136874	NM_138271	Hs.533526	ATRX	Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked
43	A_23_P109410	NM_030573	Hs.512756	THAP7	THAP domain containing 7
44	A_23_P93027	NM_003862	Hs.87191	FGF18	Fibroblast growth factor 18
45	A_23_P107195	NM_178126	Hs.463079	LOC162427	Hypothetical protein LOC162427
46	A_23_P106602	NM_031476	Hs.513779	CRISPLD2	Hypothetical protein DKFZp434B044
47	A_23_P57961	NM_002673	Hs.476209	PLXNB1	Plexin B1
48	BC006427_2278	NM_015634	Hs.279580	KIAA1279	KIAA1279
49	A_23_P133165	NM_020040	Hs.351544	TUBB4Q	Tubulin, beta polypeptide 4
50	A_23_P70775	NM_001949	Hs.269408	E2F3	E2F transcription factor 3
51	A_23_P166566	NM_024768	Hs.134807	FLJ12057	Hypothetical protein FLJ12057
52	A_23_P13711	NM_003482	Hs.482417	MLL2	Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2
53	NM_018437_1853	NM_018437	Hs.176626	HEMGN	Hemogen
54	NM_152362_1028	NM_152362	Hs.465643	TNFAIP8L1	Hypothetical protein MGC17791
55	A_23_P208172	NM_024840	Hs.183390	ZNF613	Zinc finger protein 613
56	A_23_P17655	NM_170736	Hs.411299	KCNJ15	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J
57	A_23_P111155	NM_181842	Hs.234027	ZBTB12	Zinc finger and BTB domain containing 12

58	A_23_P213825	AB018258	Hs.109358	ATP10B	ATPase, Class V, type 10B
59	A_23_P101774	NM_000453	Hs.103983	SLC5A5	Solute carrier family 5 (sodium iodide symporter), member 5
60	A_23_P67799	NM_183240	Hs.26216	TMEM37	Voltage-dependent calcium channel γ subunit-like protein
61	A_23_P130614	NM_006949	Hs.534352	STXBP2	Syntaxin binding protein 2
62	A_23_P86779	NM_004584	Hs.240457	RAD9A	RAD9 homolog A
63	A_23_P210247	NM_032546	Hs.516036	TRIM54	Tripartite motif-containing 54
64	A_23_P12306	NM_032785	Hs.144875	AGBL4	Hypothetical protein FLJ14442
65	A_23_P77971	NM_000419	Hs.411312	ITGA2B	Integrin, alpha 2b
66	A_23_P67952	BC002892	Hs.103989	MYCNOS	V-myc myelocytomatosis viral related oncogene
67	A_23_P161049	AW444622.	Hs.537722	Transcribed locus	Transcribed locus
68	A_23_P73637	NM_031273	Hs.333130	TEX13B	Testis expressed sequence 13B
69	A_23_P58005	NM_022171	Hs.517962	TCTA	T-cell leukemia translocation altered gene
70	AA877186_r_354	AK093732	Hs.90250	CDNA FLJ36413 fis	CDNA FLJ36413 fis, clone THYMU2010816
71	A_23_P212812	NM_006651	Hs.478930	CPLX1	Complexin 1
72	BE503340_r_121	BE503340	Hs.121629	Transcribed locus	Transcribed locus
73	A_23_P101831	NM_014209	Hs.194061	ETV2	Ets variant gene 2
74	A_23_P59517	NM_152558	Hs.520627	IQCE	IQ motif containing E
75	A_23_P9761	NM_053051	Hs.348012	LIP8	LYST-interacting protein LIP8
76	AK074449_1534	AK055928	Hs.522836	PGK1	Phosphoglycerate kinase 1
77	A_23_P14986	NM_000196	Hs.1376	HSD11B2	Hydroxysteroid (11-beta) dehydrogenase 2
78	A_23_P145341	NM_022555	Hs.520049	HLA-DRB1	Major histocompatibility complex, class II
79	A_23_P77704	AB007880	Hs.512856	KIAA0420	KIAA0420 gene product
80	A_23_P3413	NM_130901	Hs.355236	C15orf16	Chromosome 15 open reading frame 16
81	A_23_P251293	NM_003087	Hs.349470	SNCG	Synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1)
82	A_23_P112622	NM_000884	Hs.476231	IMPDH2	IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 2
83	A_23_P149946	NM_033100	Hs.137556	PCDH21	Protocadherin 21
84	A_23_P122265	NM_002037	Hs.390567	FYN	FYN oncogene related to SRC, FGR, YES
85	NM_152609_3132	NM_152609	Hs.368353	FLJ32001	Hypothetical protein FLJ32001
86	A_23_P255394	NM_016590	Hs.412792	PART1	Prostate androgen-regulated transcript 1

87	A_23_P80635	NM_001570	Hs.449207	IRAK2	Interleukin-1 receptor-associated kinase 2
88	AB040889_5629	NM_020844	Hs.527095	KIAA1456	KIAA1456 protein
89	AK094893_1546	NM_178155	Hs.118722	FUT8	Fucosyltransferase 8
90	A_23_P168946	NM_014943	Hs.377090	ZHX2	Zinc fingers and homeoboxes 2
91	A_23_P66063	NM_020786	Hs.232696	PDP2	Pyruvate dehydrogenase phosphatase isoenzyme 2
92	A_23_P54793	AL137382	Hs.447544	LOC146429	Hypothetical protein LOC146429
93	AK094619_1649	NM_153209	Hs.372773	FLJ37300	Hypothetical protein FLJ37300
94	A_23_P30429	NM_001543	Hs.222055	NDST1	N-deacetylase/N-sulfotransferase (heparan glucosaminyl) 1
95	A_23_P66081	NM_153029	Hs.511839	N4BP1	Nedd4 binding protein 1
96	A_23_P133934	NM_005510	Hs.153299	DOM3Z	Dom-3 homolog Z
97	A_23_P123610	NM_004972	Hs.434374	JAK2	Janus kinase 2
98	A_23_P113237	NM_022148	Hs.287729	CRLF2	Cytokine receptor-like factor 2
99	A_23_P116470	NM_001005166	Hs.553740	OR52E5	Olfactory receptor, family 52
100	A_23_P148006	NM_198584	Hs.127189	CA13	Carbonic anhydrase XIII
101	A_23_P136753	AK128652	Hs.497723	MGC27165	Hypothetical protein MGC27165
102	A_23_P55779	NM_000766	Hs.181973	CYP2A13	Cytochrome P450, family 2
103	A_23_P127135	NM_014904	Hs.173656	RAB11FIP2	RAB11 family interacting protein 2
104	A_23_P126347	NM_020063	Hs.451956	BARHL2	BarH-like 2
105	A_23_P49145	NM_152338	Hs.184507	ZG16	Zymogen granule protein 16
106	A_23_P138776	NM_001610	Hs.532492	ACP2	Acid phosphatase 2
107	A_23_P41476	BC012029	Hs.370904	LOC152573	Hypothetical protein BC012029
108	A_23_P206826	NM_015171	Hs.460468	XPO6	Exportin 6
109	A_23_P111698	NM_002360	Hs.520612	MAFK	V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog K
110	A_23_P62383	NM_198452	Hs.436667	PNCK	Pregnancy upregulated non-ubiquitously expressed CaM kinase
111	A_23_P132329	NM_021096	Hs.125116	CACNA1I	Calcium channel, voltage-dependent, alpha 1I subunit
112	A_23_P60164	NM_014665	Hs.459391	LRRC14	Leucine rich repeat containing 14
113	A_23_P159897	NM_001012977	Hs.450320	LOC340529	Hypothetical protein LOC340529
114	AW469515_r_377	AK098656	Hs.149769	CDNA FLJ25790 fis	CDNA FLJ25790 fis, clone TST06909
115	A_23_P35330	NM_024503	Hs.325890	HIVEP3	Human immunodeficiency virus type I enhancer binding protein 3

116	A_23_P212428	NM_005108	Hs.356820	XYLB	Xylulokinase homolog
117	AI264149_r_237	NM_001010880	Hs.289319	LOC284323	Hypothetical protein LOC284323
118	A_23_P203062	NM_000795	Hs.73893	DRD2	Dopamine receptor D2
119	A_23_P136629	NM_183357	Hs.129493	ADCY5	Adenylate cyclase 5
120	A_23_P50678	NM_139355	Hs.515069	MATK	Megakaryocyte-associated tyrosine kinase
121	A_23_P64529	NM_005574	Hs.34560	LMO2	LIM domain only 2
122	AW874018_r_259	NM_020754	Hs.477278	CDGAP	KIAA1204 protein
123	A_23_P88831	NM_003983	Hs.351571	SLC7A6	Solute carrier family 7
124	A_23_P102694	NM_080831	Hs.112087	DEFB129	Defensin, beta 129
125	A_23_P953	NM_005666	Hs.154224	CFHL2	Complement factor H-related 1
126	AA921850_r_255	BI520265	Hs.125950	Transcribed locus	Transcribed locus
127	A_23_P75111	NM_000102	Hs.438016	CYP17A1	Cytochrome P450, family 17
128	A_23_P36733	NM_152441	Hs.367956	FBXL14	F-box and leucine-rich repeat protein 14
129	A_23_P126660	NM_001012276	Hs.553778	PRAMEF8	PRAME family member 8
130	AI937319_r_399	NM_005338	Hs.329266	HIP1	Huntingtin interacting protein 1
131	A_23_P160273	NM_020794	Hs.479658	LRRC7	Densin-180
132	A_23_P157521	NM_032664	Hs.458713	FUT10	Fucosyltransferase 10
133	A_23_P70934	AK094086	Hs.249196	DLX6	Distal-less homeo box 6
134	A_23_P45717	NM_003036	Hs.467529	SKI	KIAA0508 protein
135	A_23_P11936	NM_183008	Hs.145061	UBXD5	Socius
136	AI033014_r_339	BX094300	Hs.49653	Transcribed locus	Transcribed locus
137	A_23_P68998	NM_017584	Hs.129227	MIOX	Myo-inositol oxygenase
138	A_23_P15369	NM_174892	Hs.313343	CD300LB	Triggering receptor expressed on myeloid cells 5
139	AI797732_r_341	NM_145206	Hs.194554	VTI1A	CDNA clone IMAGE:4773505, partial cds
140	A_23_P112859	NM_001898	Hs.123114	CST1	Cystatin SN
141	AB037830_5077	NM_020818	Hs.126561	KIAA1409	KIAA1409
142	A_23_P28133	NM_002980	Hs.42091	SCTR	Secretin receptor
143	A_23_P201764	NM_024887	Hs.369385	DHDDS	Dehydrodolichyl diphosphate synthase
144	AW340112_r_374	BC047481	Hs.98661	LOC401022	Hypothetical LOC401022

145	A_23_P29411	NM_182628	Hs.458306	FLJ40083	Hypothetical protein FLJ40083
146	A_23_P252015	NM_016643	Hs.148584	LOC51333	Mesenchymal stem cell protein DSC43
147	A_23_P116473	NM_005969	Hs.501684	NAP1L4	Nucleosome assembly protein 1-like 4
148	NM_144587_1762	NM_144587	Hs.422466	C10orf87	Chromosome 10 open reading frame 87
149	A_23_P150583	NM_003357	Hs.523732	SCGB1A1	Secretoglobin, family 1A
150	A_23_P218111	NM_001002236	Hs.525557	SERPINA1	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor1
151	A_23_P72340	NM_000707	Hs.1372	AVPR1B	Arginine vasopressin receptor 1B
152	NM_152363_1298	NM_152363	Hs.379097	ANKRD41	Hypothetical protein FLJ39369
153	A_23_P59308	NM_000125	Hs.208124	ESR1	Estrogen receptor 1
154	A_23_P210063	NM_032321	Hs.389311	MGC13057	Hypothetical protein MGC13057
155	A_23_P115190	NM_002506	Hs.2561	NGFB	Nerve growth factor, beta polypeptide
156	A_23_P41655	NM_006203	Hs.117545	PDE4D	Phosphodiesterase 4D, cAMP-specific
157	A_23_P63995	AK123483	Hs.446388	CDNA FLJ41489 fis	CDNA FLJ41489 fis, clone BRTHA2004582
158	A_23_P19522	NM_002418	Hs.2813	MLN	Motilin
159	A_23_P91562	NM_199050	Hs.473894	C21orf25	Chromosome 21 open reading frame 25
160	A_23_P39309	NM_002784	Hs.502092	PSG9	Pregnancy specific beta-1-glycoprotein 9
161	AI039243_r_348	NM_024756	Hs.524479	MMRN2	Multimerin 2
162	A_23_P110585	NM_138492	Hs.314261	MGC21644	Hypothetical protein MGC21644
163	A_23_P128572	NM_001260	Hs.382306	CDK8	Cyclin-dependent kinase 8
164	A_23_P34200	NM_022573	Hs.458252	TSPY1	Testis specific protein, Y-linked 1
165	A_23_P80523	NM_052995	Hs.380222	USH3A	Usher syndrome 3A
166	A_23_P49677	NM_173167	Hs.379636	CMYA4	Cardiomyopathy associated 4
167	A_23_P200629	NM_022819	Hs.302034	PLA2G2F	Phospholipase A2, group IIF
168	A_23_P46785	NM_003019	Hs.253495	SFTPD	Surfactant, pulmonary-associated protein D
169	NM_144612_1752	NM_144612	Hs.345877	LOXHD1	Lipoxygenase homology domains 1
170	A_23_P122600	NM_207409	Hs.259563	UNQ3045	AAAL3045
171	A_23_P156996	AK022764	Hs.528569	LOC155036	Hypothetical protein LOC155036
172	A_23_P9894	NM_005788	Hs.152337	HRMT1L3	HMT1 hnRNP methyltransferase-like 3
173	A_23_P114708	NM_000779	Hs.436317	CYP4B1	Cytochrome P450, family 4, subfamily B, polypeptide 1

174	A_23_P100065	NM_018652	Hs.546408	GOLGA6	Golgi autoantigen, golgin subfamily a, member 6
175	A_23_P99437	NM_198219	Hs.46700	ING1	Inhibitor of growth family, member 1
176	A_23_P88849	NM_004165	Hs.1027	RRAD	Ras-related associated with diabetes
177	NM_032624_948	NM_004984	Hs.151219	KIF5A	Kinesin family member 5A
178	A_23_P86599	NM_007329	Hs.279611	DMBT1	Deleted in malignant brain tumors 1
179	BF222909_r_386	NM_152309	Hs.310456	PIK3AP1	Phosphoinositide-3-kinase adaptor protein 1
180	A_23_P42004	NM_033125	Hs.520319	SLC22A16	Solute carrier family 22, member 16
181	A_23_P95599	BC043252	Hs.406976	LOC283874	Hypothetical protein LOC283874
182	AW590168_r_384	NM_001001552	Hs.181245	LEMD1	LEM domain containing 1
183	AK024974_1293	AB064046.	Hs.449621	IGKC	Immunoglobulin kappa constant
184	A_23_P164654	NM_000041	Hs.515465	APOE	Apolipoprotein E
185	A_23_P259270	NM_003948	Hs.310540	CDKL2	Cyclin-dependent kinase-like 2
186	A_23_P96662	NM_032972	Hs.554891	PCDH11Y	Protocadherin 11 Y-linked
187	A_23_P218762	NM_080926	Hs.449601	LOC96610	Hypothetical protein similar to KIAA0187 gene product
188	A_23_P57199	NM_080920	Hs.355394	GGTLA4	Gamma-glutamyltransferase-like activity 4
189	A_23_P26883	NM_032950	Hs.380710	MMP28	Matrix metalloproteinase 28
190	A_23_P208669	NM_001648	Hs.171995	KLK3	Kallikrein 3
191	A_23_P9788	BF128674	Hs.449585	IGLC2	Immunoglobulin lambda joining 3
192	A_23_P219161	NM_006334	Hs.522484	OLFM1	Olfactomedin 1
193	A_23_P117104	NM_001651	Hs.298023	AQP5	Aquaporin 5
194	A_23_P214144	NM_000493	Hs.520339	COL10A1	Collagen, type X
195	A_23_P254507	NM_032495	Hs.121443	HOP	Homeodomain-only protein

【００５３】

【表２】

配列番号	プローブ名	GBID	UniID	Uni-Gene symbol	遺伝子名
196	A_23_P62890	NM_002053	Hs.62661	GBP1	Guanylate binding protein 1
197	A_23_P168972	NM_005625	Hs.200804	SDCBP	Syndecan binding protein
198	A_23_P92441	NM_002358	Hs.533185	MAD2L1	MAD2 mitotic arrest deficient-like 1
199	A_23_P49448	NM_024306	Hs.461329	FA2H	Fatty acid 2-hydroxylase
200	A_23_P155815	NM_022346	Hs.479270	HCAP-G	Chromosome condensation protein G
201	A_23_P155815	NM_153686	Hs.446201	MLR1	Transcription factor MLR1
202	A_23_P11652	NM_003368	Hs.35086	USP1	Ubiquitin specific protease 1
203	A_23_P147345	NM_004207	Hs.500761	SLC16A3	Solute carrier family 16, member 3
204	A_23_P258321	NM_015969	Hs.44298	MRPS17	Mitochondrial ribosomal protein S17
205	A_23_P120315	NM_006636	Hs.469030	MTHFD2	Methylene tetrahydrofolate dehydrogenase
206	NM_032944_3538	NM_032944	Hs.309767	STK31	Serine/threonine kinase 31
207	A_23_P127948	NM_001124	Hs.441047	ADM	Adrenomedullin
208	A_23_P76078	NM_016584	Hs.98309	IL23A	Interleukin 23, alpha subunit p19
209	A_23_P116173	AL831866	Hs.31409	LOC120376	Hypothetical protein LOC120376
210	NM_018098_3800	NM_018098	Hs.518299	ECT2	Epithelial cell transforming sequence 2 oncogene
211	A_23_P108124	NM_013361	Hs.532870	ZNF223	Zinc finger protein 223
212	A_23_P170096	NM_004304	Hs.196534	ALK	Anaplastic lymphoma kinase (Ki-1)
213	A_23_P208880	NM_013282	Hs.108106	UHRF1	Ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains
214	A_23_P56104	NM_001010880	Hs.289319	LOC284323	Hypothetical protein LOC284323
215	A_23_P156687	NM_001710	Hs.69771	BF	B-factor, properdin
216	A_23_P45917	NM_001826	Hs.374378	CKS1B	CDC28 protein kinase regulatory subunit 1B
217	A_23_P258132	NM_015419	Hs.369422	MXRA5	Adlican
218	NM_001915_2488	NM_005063	Hs.368641	SCD	Stearoyl-CoA desaturase
219	A_23_P121533	NM_012445	Hs.302963	SPON2	Spondin 2, extracellular matrix protein
220	A_23_P103981	NM_003516	Hs.530461	HIST2H2AA	Histone 2, H2aa
221	NM_030754_408	NM_030754	Hs.1955	SAA2	Serum amyloid A2

222	A_23_P74290	NM_052942	Hs.513726	GBP5	Guanylate binding protein 5
223	A_23_P5464	NM_005444	Hs.148767	RQCD1	RCD1 required for cell differentiation1 homolog
224	A_23_P74115	NM_003579	Hs.523220	RAD54L	RAD54-like
225	A_23_P140705	NM_033286	Hs.525796	C15orf23	Chromosome 15 open reading frame 23
226	A_23_P145114	NM_001498	Hs.271264	GCLC	Glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit
227	A_23_P92222	NM_152673	Hs.69321	MUC20	Mucin 20
228	A_23_P127288	NM_000417	Hs.231367	IL2RA	Interleukin 2 receptor, alpha
229	A_23_P158725	NM_004207	Hs.500761	SLC16A3	Solute carrier family 16, member 3
230	A_23_P170362	NM_014265	Hs.528304	ADAM28	A disintegrin and metalloproteinase domain 28
231	NM_016235_2777	NM_016235	Hs.148685	GPRC5B	G protein-coupled receptor, family C
232	A_23_P146456	NM_001333	Hs.87417	CTSL2	Cathepsin L2
233	A_23_P122863	NM_001001555	Hs.164060	GRB10	Growth factor receptor-bound protein 10
234	AK023817_4258	NM_020964	Hs.514843	KIAA1632	KIAA1632 protein
235	A_23_P108871	NM_032494	Hs.418416	ZC3H8	Zinc finger CCCH type domain containing 8
236	A_23_P102801	NM_002110	Hs.126521	HCK	Hemopoietic cell kinase
237	A_23_P160427	NM_024709	Hs.519839	C1orf115	Hypothetical protein FLJ14146
238	A_23_P48175	NM_024056	Hs.103834	MGC5576	Hypothetical protein MGC5576
239	A_23_P218516	NM_013360	Hs.279840	ZNF222	Zinc finger protein 222
240	A_23_P401	NM_016343	Hs.497741	CENPF	Centromere protein F, 350/400ka (mitosin)
241	A_23_P43444	AK094914	Hs.531457	IMAGE:5311129	cDNA DKFZp667B1718
242	A_23_P136222	NM_001034	Hs.226390	RRM2	Ribonucleotide reductase M2 polypeptide
243	A_23_P139682	NM_002864	Hs.480143	PZP	Pregnancy-zone protein
244	A_23_P571	NM_006516	Hs.473721	SLC2A1	Solute carrier family 2, member 1
245	A_23_P50096	NM_001071	Hs.369762	TYMS	Thymidylate synthetase
246	A_23_P118815	NM_001168	Hs.514527	BIRC5	Baculoviral IAP repeat-containing 5
247	A_23_P169437	NM_005564	Hs.204238	LCN2	Lipocalin 2 (oncogene 24p3)
248	AW183154_r_174	NM_014875	Hs.3104	KIF14	Kinesin family member 14
249	A_23_P31031	NM_004415	Hs.519873	DSP	Desmoplakin

250	A_23_P214222	NM_002356	Hs.519909	MARCKS	Myristoylated alanine-rich protein kinase C substrate
251	A_23_P143184	NM_002466	Hs.179718	MYBL2	V-myb myeloblastosis viral oncogene homolog (avian)-like 2
252	A_23_P217148	NM_002024	Hs.103183	FMR1	Fragile X mental retardation 1
253	A_23_P19938	NM_006854	Hs.520210	KDELR2	KDEL endoplasmic reticulum protein retention receptor 2
254	AI767630_r_316	BM716045	Hs.444683	Transcribed locus	Transcribed locus
255	A_23_P74349	NM_145697	Hs.234545	CDCA1	Cell division cycle associated 1
256	A_23_P202232	NM_002417	Hs.80976	MKI67	Antigen identified by monoclonal antibody Ki-67
257	A_23_P106412	NM_013272	Hs.311187	SLCO3A1	Solute carrier organic anion transporter family, member 3A1
258	A_23_P258493	NM_005573	Hs.89497	LMNB1	Lamin B1
259	A_23_P90612	NM_005915	Hs.444118	MCM6	MCM6 minichromosome maintenance deficient 6
260	NM_152471_1121	BQ010725	Hs.541635	Transcribed locus	Transcribed locus
261	A_23_P69084	NM_032383	Hs.477898	HPS3	Hermansky-Pudlak syndrome 3
262	A_23_P39095	NM_033377	Hs.511776	CGB1	Chorionic gonadotropin, beta polypeptide 1
263	A_23_P104651	NM_080668	Hs.434886	CDCA5	Cell division cycle associated 5
264	AA904658_r_329	BU739024	Hs.117299	Transcribed locus	Transcribed locus
265	A_23_P250853	NM_006080	Hs.252451	SEMA3A	Sema domain
266	A_23_P67847	NM_024572	Hs.468058	GALNT14	N-acetylgalactosaminyltransferase 14
267	BG150446_r_410	XM_034086	Hs.21554	KIAA1107	KIAA1107 protein
268	A_23_P130027	NM_017957	Hs.165904	EPN3	Epsin 3
269	BF111086_r_403	NM_018013	Hs.445244	FLJ10159	Hypothetical protein FLJ10159
270	A_23_P124884	NM_001565	Hs.413924	CXCL10	Chemokine (C-X-C motif) ligand 10
271	A_23_P217797	NM_004660	Hs.99120	DDX3Y	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) box polypeptide 3, Y-linked
272	A_23_P20022	NM_013332	Hs.521171	HIG2	Hypoxia-inducible protein 2
273	A_23_P152570	NM_144678	Hs.462379	TOM1L2	Target of myb1-like 2
274	A_23_P70168	NM_152295	Hs.481860	TARS	Threonyl-tRNA synthetase
275	A_23_P145694	NM_133436	Hs.489207	ASNS	Asparagine synthetase
276	A_23_P50108	NM_006101	Hs.414407	KNTC2	Kinetochore associated 2
277	AA664276_r_390	NM_007210	Hs.505575	GALNT6	N-acetylgalactosaminyltransferase 6
278	A_23_P210690	NM_021158	Hs.516826	TRIB3	Tribbles homolog 3
279	A_23_P157099	NM_018685	Hs.62180	ANLN	Anillin, actin binding protein
280	NM_152350_1129	NM_152350	Hs.368934	MGC40157	Hypothetical protein MGC40157

281	A_23_P201636	NM_005562	Hs.530509	LAMC2	Laminin, gamma 2
282	A_23_P252572	NM_001001888	Hs.278906	VCX-C	Variably charged X-C
283	A_23_P252572	NM_013452	Hs.511987	VCX	Variable charge, X-linked
284	A_23_P259641	NM_004456	Hs.444082	EZH2	Enhancer of zeste homolog 2
285	A_23_P123974	NM_012145	Hs.471873	DTYMK	Deoxythymidylate kinase
286	A_23_P253012	NM_017577	Hs.24583	DKFZp434C0328	Hypothetical protein DKFZp434C0328

【００５４】

【表３】

配列番号	プローブ名	GBID	UniID	Uni-Gene symbol	遺伝子名
4	A_23_P250347	NM_001744	Hs.220629	CAMK4	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV
2	A_23_P165582	NM_006226	Hs.153322	PLCL1	Phospholipase C-like 1
9	A_23_P150648	NM_018722	Hs.127821	KCNQ1DN	KCNQ1 downstream neighbor
3	A_23_P164860	NM_004917	Hs.218366	KLK4	Kallikrein 4
5	A_23_P145445	NM_030948	Hs.436996	PHACTR1	Phosphatase and actin regulator 1
8	A_23_P102481	NM_005214	Hs.247824	CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
16	A_23_P127068	NM_017893	Hs.550526	SEMA4G	Semaphorin 4G
37	AK095829_2272	NM_144569	Hs.62604	SPOCD1	SPOC domain containing 1
7	A_23_P204079	NM_003717	Hs.104555	NPFF	Neuropeptide FF-amide peptide precursor
18	A_23_P131050	NM_030924	Hs.465720	BGR	Bubblegum related protein
10	A_23_P32847	NM_001510	Hs.480281	GRID2	Glutamate receptor, ionotropic, delta 2
31	A_23_P252796	NM_152421	Hs.495480	MGC20262	Hypothetical protein MGC20262
12	AK025387_1735	AK025387	Hs.545862	CDNA FLJ21734 fis	CDNA: FLJ21734 fis
287	A_23_P117602	NM_004131	Hs.1051	GZMB	Granzme B
28	A_23_P21519	NM_018401	Hs.133062	STK32B	Serine/threonine kinase 32B
288	A_23_P41344	NM_001432	Hs.115263	EREG	Epiregulin
81	A_23_P251293	NM_003087	Hs.349470	SNCG	Synuclein, gamma (breast cancer-specific protein 1)
26	A_23_P114118	NM_006089	Hs.495774	SCML2	Sex comb on midleg-like 2
41	A_23_P204378	NM_020400	Hs.155538	GPR92	G protein-coupled receptor 92
6	A_23_P10104	NM_015963	Hs.435759	THAP4	THAP domain containing 4
24	A_23_P65659	NM_024490	Hs.128041	ATP10A	ATPase, Class V, type 10A
54	NM_152362_1028	NM_152362	Hs.465643	MGC17791	Hypothetical protein MGC17791
34	A_23_P134887	NM_024870	Hs.169943	DEPDC2	DEP domain containing 2
21	A_23_P169569	NM_031296	Hs.534496	RAB33B	member RAS oncogene family
289	A_23_P71379	NM_005672	Hs.379010	PSCA	Prostate stem cell antigen
105	A_23_P49145	NM_152338	Hs.184507	ZG16	Zymogen granule protein 16
38	AI827656_r_387	NM_152660	Hs.469359	FAM76A	Hypothetical protein MGC34648
290	A_23_P64372	NM_001062	Hs.2012	TCN1	Transcobalamin I
58	A_23_P213825	AB018258	Hs.109358	ATP10B	ATPase, Class V, type 10B
127	A_23_P75111	NM_000102	Hs.438016	CYP17A1	Cytochrome P450, family 17

32	A_23_P166438	NM_030642	Hs.326561	APOL5	Apolipoprotein L, 5
128	A_23_P36733	NM_152441	Hs.367956	FBXL14	F-box and leucine-rich repeat protein 14
35	AB040943_6703	NM_020882	Hs.271285	COL20A1	KIAA1510 protein
53	NM_018437_1853	NM_018437	Hs.176626	HEMGN	Hemogen
83	A_23_P149946	NM_033100	Hs.137556	PCDH21	Protocadherin 21
27	AI381505_r_403	XM_378917	Hs.437806	LOC400796	Hypothetical LOC400796
62	A_23_P86779	NM_004584	Hs.240457	RAD9A	RAD9 homolog A
15	A_23_P41127	NM_003884	Hs.533055	PCAF	P300/CBP-associated factor
106	A_23_P138776	NM_001610	Hs.532492	ACP2	Acid phosphatase 2
22	A_23_P14971	NM_005329	Hs.85962	HAS3	Hyaluronan synthase 3
291	A_23_P214907	NM_015440	Hs.268698	MTHFD1L	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1-like
74	A_23_P59517	NM_152558	Hs.520627	IQCE	IQ motif containing E
161	AI039243_r_348	NM_024756	Hs.524479	MMRN2	Multimerin 2
187	A_23_P9788	BF128674	Hs.449585	IGLC2	Immunoglobulin lambda joining 3
36	A_23_P164566	NM_005024	Hs.158339	SERPINB10	Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, member 10
76	AK074449_1534	AK055928	Hs.522836	PGK1	Phosphoglycerate kinase 1
48	BC006427_2278	NM_015634	Hs.279580	KIAA1279	KIAA1279
30	AI188101_r_349	NM_022784	Hs.444535	FLJ12476	Hypothetical protein FLJ12476
157	A_23_P63995	AK123483	Hs.446388	CDNA FLJ4148	CDNA FLJ41489 fis, clone BRTHA2004582
114	AW469515_r_377	AK098656	Hs.149769	CDNA FLJ25790 fis	CDNA FLJ25790 fis, clone TST06909
46	A_23_P106602	NM_031476	Hs.513779	CRISPLD2	Hypothetical protein DKFZp434B044
59	A_23_P101774	NM_000453	Hs.103983	SLC5A5	Solute carrier family 5 (sodium iodide symporter), member 5
43	A_23_P109410	NM_030573	Hs.512756	THAP7	THAP domain containing 7
75	A_23_P9761	NM_053051	Hs.348012	LIP8	LYST-interacting protein LIP8
134	A_23_P45717	NM_003036	Hs.467529	SKI	KIAA0508 protein
97	A_23_P123610	NM_004972	Hs.434374	JAK2	Janus kinase 2
154	A_23_P210063	NM_032321	Hs.389311	MGC13057	Hypothetical protein MGC13057
292	AI033014_r_339	BX094300	Hs.49653	NODATA	Transcribed locus
293	A_23_P80635	NM_001570	Hs.424542	IRAK2	Interleukin-1 receptor-associated kinase 2
110	A_23_P62383	NM_198452	Hs.436667	PNCK	Pregnancy upregulated non-ubiquitously expressed CaM kinase
63	A_23_P210247	NM_032546	Hs.516036	TRIM54	Tripartite motif-containing 54

42	A_23_P136874	NM_138271	Hs.533526	ATRX	Alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked
45	A_23_P107195	NM_178126	Hs.463079	LOC162427	Hypothetical protein LOC162427
179	BF222909_r_386	NM_152309	Hs.310456	PIK3AP1	Phosphoinositide-3-kinase adaptor protein 1
126	AA921850_r_255	BI520265	Hs.125950	Transcribed locus	Transcribed locus
123	A_23_P88831	NM_003983	Hs.351571	SLC7A6	Solute carrier family 7
71	A_23_P212812	NM_006651	Hs.478930	CPLX1	Complexin 1
33	AI862477_r_385	NM_024632	Hs.483906	SAP30L	Sin3A associated protein p30-like
170	A_23_P122600	NM_207409	Hs.259563	UNQ3045	AAAL3045
133	A_23_P70934	AK094086	Hs.249196	DLX6	Distal-less homeo box 6
86	A_23_P255394	NM_016590	Hs.412792	PART1	Prostate androgen-regulated transcript 1
55	A_23_P208172	NM_024840	Hs.183390	ZNF613	Zinc finger protein 613
44	A_23_P93027	NM_003862	Hs.87191	FGF18	Fibroblast growth factor 18
190	A_23_P208669	NM_001648	Hs.171995	KLK3	Kallikrein 3
156	A_23_P41655	NM_006203	Hs.117545	PDE4D	Phosphodiesterase 4D, cAMP-specific
186	A_23_P96662	NM_032972	Hs.554891	PCDH11Y	Protocadherin 11 Y-linked
49	A_23_P133165	NM_020040	Hs.351544	TUBB4Q	Tubulin, beta polypeptide 4
85	NM_152609_3132	NM_152609	Hs.368353	FLJ32001	Hypothetical protein FLJ32001
52	A_23_P13711	NM_003482	Hs.482417	MLL2	Myeloid/lymphoid or mixed-lineage leukemia 2
141	AB037830_5077	NM_020818	Hs.126561	KIAA1409	KIAA1409
125	A_23_P953	NM_005666	Hs.154224	CFHL2	Complement factor H-related 1
91	A_23_P66063	NM_020786	Hs.232696	PDP2	Pyruvate dehydrogenase phosphatase isoenzyme 2
180	A_23_P42004	NM_033125	Hs.520319	SLC22A16	Solute carrier family 22, member 16
96	A_23_P133934	NM_005510	Hs.153299	DOM3Z	Dom-3 homolog Z
183	AK024974_1293	AB064046.	Hs.449621	IGKC	Immunoglobulin kappa constant
160	A_23_P39309	NM_002784	Hs.502092	PSG9	Pregnancy specific beta-1-glycoprotein 9
67	A_23_P161049	AW444622.	Hs.537722	Transcribed locus	Transcribed locus
100	A_23_P148006	NM_198584	Hs.127189	CA13	Carbonic anhydrase XIII
294	AK055725_2634	XR_000167	Hs.525589	MEG3	Maternally expressed 3
82	A_23_P112622	NM_000884	Hs.476231	IMPDH2	IMP (inosine monophosphate) dehydrogenase 2
88	AB040889_5629	NM_020844	Hs.527095	KIAA1456	KIAA1456 protein
95	A_23_P66081	NM_153029	Hs.511839	N4BP1	Nedd4 binding protein 1

93	AK094619_1649	NM_153209	Hs.372773	FLJ37300	Hypothetical protein FLJ37300
124	A_23_P102694	NM_080831	Hs.112087	DEFB129	Defensin, beta 129
164	A_23_P34200	NM_022573	Hs.458252	TSPY1	Testis specific protein, Y-linked 1
102	A_23_P55779	NM_000766	Hs.181973	CYP2A13	Cytochrome P450, family 2
117	AI264149_r_237	NM_001010880	Hs.289319	LOC284323	Hypothetical protein LOC284323
295	A_23_P79398	NM_004633	Hs.25333	IL1R2	Interleukin 1 receptor, type II
296	A_23_P112927	NM_181900	Hs.513075	STARD5	START domain containing 5
116	A_23_P212428	NM_005108	Hs.356820	XYLB	Xylulokinase homolog
297	A_23_P165703	NM_024093	Hs.549577	MGC5509	Hypothetical protein MGC5509
165	A_23_P80523	NM_052995	Hs.380222	USH3A	Usher syndrome 3A
175	A_23_P99437	NM_198219	Hs.46700	ING1	Inhibitor of growth family, member 1
137	A_23_P68998	NM_017584	Hs.129227	MIOX	Myo-inositol oxygenase
298	A_23_P121692	NM_006419	Hs.100431	CXCL13	Chemokine (C-X-C motif) ligand 13
119	A_23_P136629	NM_183357	Hs.129493	ADCY5	Adenylate cyclase 5
103	A_23_P127135	NM_014904	Hs.173656	RAB11FIP2	RAB11 family interacting protein 2
299	A_23_P170719	NM_139314	Hs.9613	ANGPTL4	Angiopoietin-like 4
300	A_23_P25709	NM_024734	Hs.301478	CLMN	Calmin (calponin-like, transmembrane)
301	A_23_P116470	NM_001005166	Hs.553740	OR52E5	Olfactory receptor, family 52, subfamily E, member 5
177	NM_032624_948	NM_004984	Hs.151219	KIF5A	Kinesin family member 5A
143	A_23_P201764	NM_024887	Hs.369385	DHDDS	Dehydrodolichyl diphosphate synthase
302	A_23_P65040	NM_032032	Hs.525383	FKSG42	FKSG42
303	A_23_P571	NM_006516	Hs.473721	SLC2A1	Solute carrier family 2, member 1
304	A_23_P154766	NM_080611	Hs.375624	DUSP15	Dual specificity phosphatase-like 15
80	A_23_P3413	NM_130901	Hs.355236	C15orf16	Chromosome 15 open reading frame 16
305	A_23_P93641	NM_020299	Hs.116724	AKR1B10	Aldo-keto reductase family 1, member B10
306	A_23_P159328	NM_139314	Hs.9613	ANGPTL4	Angiopoietin-like 4
307	A_23_P101673	NM_033064	Hs.418055	ATCAY	Ataxia, cerebellar, Cayman type (caytaxin)

【００５５】

【表４】

配列番号	プローブ名	GBID	UniID	Uni-Gene symbol	遺伝子名
308	A_23_P162668	NM_001874	Hs.334873	CPM	Carboxypeptidase M
309	A_23_P146233	NM_000237	Hs.180878	LPL	Lipoprotein lipase
310	A_23_P102801	NM_002110	Hs.126521	HCK	Hemopoietic cell kinase
311	A_23_P92499	NM_003264	Hs.519033	TLR2	Toll-like receptor 2
312	A_23_P128447	AY792511	Hs.187636	LRRK2	Leucine-rich repeat kinase 2
313	A_23_P29773	NM_014398	Hs.518448	LAMP3	Lysosomal-associated membrane protein 3
314	A_23_P84475	BC030211	Hs.322761	NODATA	clone IMAGE:5199989
315	A_23_P116173	AL831866	Hs.31409	LOC120376	Hypothetical protein LOC120376
316	A_23_P25030	NM_003725	Hs.524513	HSD17B6	3-hydroxysteroid epimerase
168	A_23_P46785	NM_003019	Hs.253495	SFTPD	Surfactant, pulmonary-associated protein D
317	A_23_P36745	NM_000690	Hs.436437	ALDH2	Aldehyde dehydrogenase 2 family
318	A_23_P163306	NM_032866	Hs.148989	CGNL1	junction-associated coiled-coil protein
319	A_23_P69171	NM_033050	Hs.279575	SUCNR1	Succinate receptor 1
320	A_23_P43817	NM_032793	Hs.75668	MFSD2	Hypothetical protein FLJ14490
321	AK096822_2646	NM_152520	Hs.470791	ZNF533	Zinc finger protein 533
322	A_23_P115022	NM_144626	Hs.104476	MGC17299	Hypothetical protein MGC17299
323	A_23_P257111	NM_000507	Hs.494496	FBP1	Fructose-1,6-bisphosphatase 1
324	A_23_P91669	NM_014422	Hs.517549	PIB5PA	Phosphatidylinositol (4,5) bisphosphate 5-phosphatase
325	A_23_P252572	NM_001001888	Hs.278906	VCX-C	Variably charged X-C
326	A_23_P104252	NM_030569	Hs.498586	ITIH5	Inter-alpha (globulin) inhibitor H5
327	A_23_P134854	NM_194284	Hs.183617	CLDN23	Claudin 23
328	A_23_P26854	NM_014859	Hs.499758	KIAA0672	KIAA0672 gene product
329	NM_153014_2705	AK125154	Hs.350065	PLXNA2	Plexin A2
330	A_23_P88710	NM_015497	Hs.511138	DKFZP564G2022	DKFZP564G2022 protein
331	A_23_P14595	NM_001275	Hs.150793	CHGA	Chromogranin A
332	A_23_P143068	NM_024726	Hs.129174	IQCA	IQ motif containing with AAA domain
333	A_23_P36416	NM_013267	Hs.212606	GLS2	Glutaminase 2
334	A_23_P121926	NM_005410	Hs.275775	SEPP1	Selenoprotein P

178	A_23_P86599	NM_007329	Hs.279611	DMBT1	Deleted in malignant brain tumors 1
335	A_23_P217731	NM_000052	Hs.496414	ATP7A	ATPase
336	A_23_P18493	NM_080685	Hs.436142	PTPN13	Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 13
337	A_23_P21644	NM_016245	Hs.282984	DHRS8	Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 8
338	AI215628_r_416	NM_023938	Hs.32417	C1orf116	Specifically androgen-regulated protein
339	A_23_P92222	NM_152673	Hs.69321	MUC20	Mucin 20
340	A_23_P26965	NM_005408	Hs.414629	CCL13	Chemokine (C-C motif) ligand 13
341	A_23_P139104	NM_178570	Hs.502618	RTN4RL2	Reticulon 4 receptor-like 2
342	A_23_P67367	NM_014475	Hs.405755	DHDH	Dihydrodiol dehydrogenase (dimeric)
343	A_23_P139682	NM_002864	Hs.480143	PZP	Pregnancy-zone protein
70	AA877186_r_354	AK093732	Hs.90250	CDNA FLJ36413 fis	CDNA FLJ36413 fis, clone THYMU2010816
173	A_23_P114708	NM_000779	Hs.436317	CYP4B1	Cytochrome P450, family 4, subfamily B, polypeptide 1
344	AI760943_r_338	CA439310	Hs.60371	NODATA	Transcribed locus
345	NM_018599_1448	NM_020130	Hs.283683	C8orf4	Chromosome 8 open reading frame 4
346	NM_152748_3072	NM_152748	Hs.208093	KIAA1324L	Hypothetical protein FLJ31340
347	A_23_P152505	NM_020686	Hs.336768	ABAT	4-aminobutyrate aminotransferase
348	A_23_P37564	NM_006122	Hs.116459	MAN2A2	Mannosidase, alpha, class 2A, member 2
349	A_23_P82402	NM_138426	Hs.131673	GLCCI1	Glucocorticoid induced transcript 1
142	A_23_P28133	NM_002980	Hs.42091	SCTR	Secretin receptor
350	A_23_P897	NM_023938	Hs.32417	C1orf116	Specifically androgen-regulated protein
351	A_23_P140207	NM_004563	Hs.75812	PCK2	Phosphoenolpyruvate carboxykinase 2
188	A_23_P57199	NM_080920	Hs.355394	GGTLA4	Gamma-glutamyltransferase-like activity 4

【００５６】

したがって、本発明は、その一の態様により、肺腺癌を、ＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型に識別、分類し、次いでＴＲＵ型腺癌をＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型に識別、分類する方法を

提供する。

【００５７】

この方法は、患者の生物学的試料中の上記の各遺伝子セットの１又は２以上の遺伝子について、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、又はＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間、の相対的発現レベルの差を測定し、該発現レベルの差を示す遺伝子が、表１に列挙された遺伝子群のいずれかである場合、肺腺癌がＴＲＵ型であると決定し、表２に列挙された遺伝子群のいずれかである場合、肺腺癌が非ＴＲＵ型であると決定する。さらに、ＴＲＵ型と決定された腺癌のうち、表３に列挙された遺伝子群のいずれかである場合、肺腺癌がＴＲＵ－a型であると決定し、表４に列挙された遺伝子群のいずれかである場合、肺腺癌がＴＲＵ－ｂ型であると決定することを含む。

【００５８】

より具体的にいうと、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ型腺癌と判定し、一方、上記非ＴＲＵ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌を非ＴＲＵ型腺癌と判定する。

【００５９】

さらに、ＴＲＵ－ａ型腺癌とＴＲＵ－ｂ型腺癌との間で、上記ＴＲＵ－ａ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ａ型腺癌と判定し、一方、上記ＴＲＵ－ｂ型に属する遺伝子の発現レベルが相対的に大きいとき上記腺癌をＴＲＵ－ｂ型腺癌と判定する。

【００６０】

例えば、ＴＲＵ型腺癌に属する遺伝子Ａ，Ｂ，Ｃ、非ＴＲＵ型腺癌に属する遺伝子Ｘ，Ｙ，Ｚについて、腺癌試料１及び試料２中の遺伝子Ａの発現レベルがそれぞれ130、80（恣意的単位）であり、腺癌試料１及び試料２中の遺伝子Ｂの発現レベルがそれぞれ25、20（恣意的単位）であり、腺癌試料１及び試料２中の遺伝子Ｃの発現レベルがそれぞれ1050、950（恣意的単位）であり、腺癌試料１及び試料２中の遺伝子Ｘの発現レベルがそれぞれ600、650（恣意的単位）であり、腺癌試料１及び試料２中の遺伝子Ｙの発現レベルがそれぞれ350、450（恣意的単位）であり、同じ試料１及び試料２中の遺伝子Ｚの発現レベルがそれぞれ25、50（恣意的単位）であるとき、試料１がＴＲＵ型腺癌、試料２が非ＴＲＵ型腺癌であると識別する。

【００６１】

本発明はさらに、別の態様により、肺腺癌のＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型を、患者の生物学的試料中の上記の表１～４に列挙した対応の遺伝子セットの１又は２以上の遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体について、上記分類法と同様に、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、又はＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間、の相対的発現レベルの差を測定することによって識別することを含む、患者の術後予後を予測する方法を提供する。

【００６２】

この方法によれば、肺腺癌を先ずＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型に識別し、次いでＴＲＵ型腺癌であると判定された場合、ＴＲＵ型をさらにＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型に識別することを含み、肺腺癌の亜型がＴＲＵ-ｂ型であれば術後予後が良好である、或いは、ＴＲＵ-ａ型又は非ＴＲＵ型であれば術後予後が不良であると判定することを含む。

【００６３】

さらに、本発明者ら、ＴＲＵ型腺癌において、ＥＧＦＲ突然変異の存在が非ＴＲＵ型腺癌よりも有意に多く観察されたこと（４５．３％対２１．６％）、及びＥＧＦＲ突然変異を含むＴＲＵ型腺癌をもつ患者の術後予後が、野生型の非突然変異ＥＧＦＲを含むＴＲＵ腺癌をもつ患者の予後と比べて不良であるという興味ある知見を得た。ＥＧＦＲ遺伝子変異を有する肺癌、特にＮＳＣＬＣがゲフィチニブ（ＥＧＦＲチロシンキナーゼ阻害剤）に高い感受性を示すことが知られているため、このような分子標的薬治療を施すための患者の選別のために前記知見を利用することができる。

【００６４】
すなわち、本発明は、上記予後予測方法において、特にＴＲＵ型肺腺癌でＥＧＦＲ遺伝子が突然変異を含む場合、野生型ＥＧＦＲ遺伝子を含む肺腺癌と比べて患者の術後予後が不良であると予測することをさらに含む。ＴＲＵ型肺腺癌におけるこのような予測は上記の亜型と予後との関係に基づく予測と組み合わせることによって、より確度が高く臨床的な応用価値の高い診断又は判定が可能になると考えられる。
【００６５】
また、すべての腺癌において、ＥＧＦＲ突然変異を有しかつ腺癌内に２倍以上のアップレギュレーションをもつ５つの遺伝子と、ＥＧＦＲ突然変異の存在と関連して１．５～２倍のアップレギュレーションを示す１１の遺伝子を同定し、さらに、高い頻度で出現するＥＧＦＲ突然変異を有するＴＲＵ型腺癌内で特異的かつ示差的に発現される遺伝子について検索し、ＥＧＦＲ突然変異の存在下で２倍以上のアップレギュレーションを有するＧＧＴＬＡ４遺伝子、及び１．５～２倍のアップレギュレーションを示す、ＲＡＭＰ１、ＡＰＯＨ、ＰＥＸ３、ＥＳＴ及びＤＨＲＳ７遺伝子を同定した。
【００６６】
さらにまた、非ＴＲＵ型腺癌症例は、最も高いパーセンテージの、ｐ５３及び/又はＫ－ｒａｓ突然変異（ｐ５３について４１％；Ｋ－ｒａｓについて１６％）を有する腫瘍を含み、次いでＴＲＵ-ａ型（それぞれ２９％及び１２％）、ＴＲＵ-ｂ型（それぞれ２１％及び０％）の順であった。このことは、非ＴＲＵ型腺癌は、他の亜型、特にＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂ型腺癌、と比べて、相対的に高いｐ５３及び/又はＫ－ｒａｓ突然変異を含むことを示している。
【００６７】
これらの知見もまた、同様に、肺腺癌患者の術後予後の判定と組み合わせて使用することによって、予後判定のために役立つと考えられる。
【００６８】
本発明の方法においては、はじめに、表１～４に列挙される各遺伝子セットに含まれる遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体の発現を測定するための核酸を準備する。
【００６９】
そのような核酸は、下記のＵｎｉＧｅｎｅ登録番号：
Hs.512690、Hs.153322、Hs.218366、Hs.220629、Hs.436996、Hs.435759、Hs.104555、Hs.247824、Hs.127821、Hs.480281、Hs.529117、Hs.545862、Hs.391561、Hs.479372、Hs.533055、Hs.550526、Hs.322854、Hs.465720、Hs.356664、Hs.26630、Hs.534496、Hs.85962、Hs.211267、Hs.128041、Hs.534458、Hs.495774、Hs.437806、Hs.133062、Hs.501758、Hs.444535、Hs.495480、Hs.326561、Hs.483906、Hs.169943、Hs.271285、Hs.158339、Hs.62604、Hs.469359、Hs.436657、Hs.8417、Hs.155538、Hs.533526、Hs.512756、Hs.87191、Hs.463079、Hs.513779、Hs.476209、Hs.279580、Hs.351544、Hs.269408、Hs.134807、Hs.482417、Hs.176626、Hs.465643、Hs.183390、Hs.411299、Hs.234027、Hs.109358、Hs.103983、Hs.26216、Hs.534352、Hs.240457、Hs.516036、Hs.144875、Hs.411312、Hs.103989、Hs.537722、Hs.333130、Hs.517962、Hs.90250、Hs.478930、Hs.121629、Hs.194061、Hs.520627、Hs.348012、Hs.522836、Hs.1376、Hs.520049、Hs.512856、Hs.355236、Hs.349470、Hs.476231、Hs.137556、Hs.390567、Hs.368353、Hs.412792、Hs.449207、Hs.527095、Hs.118722、Hs.377090、Hs.232696、Hs.447544、Hs.372773、Hs.222055、Hs.511839、Hs.153299、Hs.434374、Hs.287729、Hs.553740、Hs.127189、Hs.497723、Hs.181973、Hs.173656、Hs.451956、Hs.184507、Hs.532492、Hs.370904、Hs.460468、 Hs.520612、Hs.436667、Hs.125116、Hs.459391、Hs.450320、Hs.149769、Hs.325890、Hs.356820、Hs.289319、Hs.73893、Hs.129493、Hs.515069、Hs.34560、Hs.477278、Hs.351571、Hs.112087、Hs.154224、Hs.125950、Hs.438016、Hs.367956、Hs.553778、Hs.329266、Hs.479658、Hs.458713、Hs.249196、Hs.467529、Hs.145061、Hs.49653、Hs.129227、Hs.313343、Hs.194554、Hs.123114、Hs.126561、Hs.42091、Hs.369385、Hs.98661、Hs.458306、Hs.148584、Hs.5016

84、Hs.422466、Hs.523732、Hs.525557、Hs.1372、Hs.379097、Hs.208124、Hs.389311、Hs.2561、Hs.117545、Hs.446388、Hs.2813、Hs.473894、Hs.502092、Hs.524479、Hs.314261、Hs.382306、Hs.458252、Hs.380222、Hs.379636、Hs.302034、Hs.253495、Hs.345877、Hs.259563、Hs.528569、Hs.152337、Hs.436317、Hs.546408、Hs.46700、Hs.1027、Hs.151219、Hs.279611、Hs.310456、Hs.520319、Hs.406976、Hs.181245、Hs.449621、Hs.515465、Hs.310540、Hs.554891、Hs.449601、Hs.355394、Hs.380710、Hs.171995、Hs.449585、Hs.522484、Hs.298023、Hs.520339、Hs.121443、
Hs.62661、Hs.200804、Hs.533185、Hs.461329、Hs.479270、Hs.446201、Hs.35086、Hs.500761、Hs.44298、Hs.469030、Hs.309767、Hs.441047、Hs.98309、Hs.31409、Hs.518299、Hs.532870、Hs.196534、Hs.108106、Hs.289319、Hs.69771、Hs.374378、Hs.369422、Hs.368641、Hs.302963、Hs.530461、Hs.1955、Hs.513726、Hs.148767、Hs.523220、Hs.525796、Hs.271264、Hs.69321、Hs.231367、Hs.500761、Hs.528304、Hs.148685、Hs.87417、Hs.164060、Hs.514843、Hs.418416、Hs.126521、Hs.519839、Hs.103834、Hs.279840、Hs.497741、Hs.531457、Hs.226390、Hs.480143、Hs.473721、Hs.369762、Hs.514527、Hs.204238、Hs.3104、Hs.519873、Hs.519909、Hs.179718、Hs.103183、Hs.520210、Hs.444683、Hs.234545、Hs.80976、Hs.311187、Hs.89497、Hs.444118、Hs.541635、Hs.477898、Hs.511776、Hs.434886、Hs.117299、Hs.252451、Hs.468058、Hs.21554、Hs.165904、Hs.445244、Hs.413924、Hs.99120、Hs.521171、Hs.462379、Hs.481860、Hs.489207、Hs.414407、Hs.505575、Hs.516826、Hs.62180、Hs.368934、Hs.530509、Hs.278906、Hs.511987、Hs.444082、Hs.471873、Hs.24583、
Hs.1051、Hs.115263、Hs.379010、Hs.2012、Hs.268698、Hs.49653、Hs.424542、Hs.525589、Hs.25333、Hs.513075、Hs.549577、Hs.100431、Hs.9613、Hs.301478、Hs.553740、Hs.525383、Hs.473721、Hs.375624、Hs.116724、Hs.9613、Hs.418055、
Hs.334873、Hs.180878、Hs.126521、Hs.519033、Hs.187636、Hs.518448、Hs.322761、Hs.31409、Hs.524513、Hs.436437、Hs.148989、Hs.279575、Hs.75668、Hs.470791、Hs.104476、Hs.494496、Hs.517549、Hs.278906、Hs.498586、Hs.183617、Hs.499758、Hs.350065、Hs.511138、Hs.150793、Hs.129174、Hs.212606、Hs.275775、Hs.496414、Hs.436142、Hs.282984、Hs.32417、Hs.69321、Hs.414629、Hs.502618、Hs.405755、Hs.480143、Hs.60371、Hs.283683、Hs.208093、Hs.336768、Hs.116459、Hs.131673、Hs.32417、Hs.75812
を有する遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体の発現を検出することができる核酸であって、

（１）配列番号１～３５１に示されるヌクレオチド配列、

（２）配列番号１～３５１に示されるヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列、

（３）前記（１）又は（２）のヌクレオチド配列に相補的なヌクレオチド配列、

（４）前記（１）、（２）又は（３）のいずれかの配列とストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列、並びに、

（５）前記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列の１５塩基から全塩基数未満の部分配列、

からなる群から選択される配列を有する１又は２以上の核酸である。

【００７０】

上記核酸は、例えば約１００塩基以下のＤＮＡ分子であれば、ホスホアミダイト法を利用するＤＮＡ自動合成装置（例えばＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、米国）を用いて合成することができる。或いは、上記核酸は、ｃＤＮＡクローニングによって作製することができる。腫瘍の肺組織から全ＲＮＡを取得し、オリゴｄＴセルロースカラム処理によってポリＡ（＋）ＲＮＡを得たのち、逆転写酵素-ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ-ＰＣＲ）法によってｃＤＮＡライブラリーを作製し、このライブラリーから、遺伝子バンクに登録された配列に基づいて予め作製したプローブ（１５以上、好ましくは３０以上、より好ましくは、５０～１００以上の塩基長）とのハイブリダイゼーションによりｃＤＮＡクローンを得ることができる。取得したクローンは、例えば市販されるような発現ベクターに組み込んだのち大腸菌、枯草菌などの適当な宿主細胞に導入し、宿主細胞を増殖するこ

とによって、或いは遺伝子バンクに登録された配列に基づいて予め作製したプライマー（通常１５～３０塩基、好ましくは１７～２５塩基長）を使用し、かつ前記ｃＤＮＡクローンを鋳型とするポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）によって、増幅することができる。ｃＤＮＡクローニング及びＰＣＲ法の具体的手順や試薬等については、市販のキット、装置、試薬を使用することができるし、また、例えばＳａｍｂｒｏｏｋ Ｊら, Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ, １９８９年, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ（米国）；Ａｕｓｂｅｌ ＦＭら, Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（３版）Ａ Ｃｏｍｐｅｎｄｉｕｍ ｏｆ Ｍｅｔｈｏｄ ｓ ｆｒｏｍ Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ, １９９５年, Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ, Ｉｎｃ.（米国）などに教示されている。

【００７１】

上記（４）の核酸において、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む核酸は、配列番号１～３５１に示される配列又はその相補的配列を含むいずれかの核酸とハイブリダイズする任意の核酸である。このような核酸はＤＮＡ又はＲＮＡである。

【００７２】

ストリンジェントな条件は、上に定義し例示した条件を含む。すなわち、そのような条件の例は、１Ｍ塩化ナトリウム／０．５％（Ｗ／Ｖ）サルコシル／３０％ホルムアミド中、６０℃、１７時間のハイブリダイゼーション、その後、６×ＳＳＣ／０．００５％（Ｗ／Ｖ）トライトンＸ-１０２溶液中、室温、10分間を一回、さらに、０．１×ＳＳＣ／０．００５％（Ｗ／Ｖ）トライトンＸ-１０２溶液中で０～４℃に保ちながら５分間を一回が洗浄の条件である。ここでの１×ＳＳＣは１５０ｍＭ塩化ナトリウムと１５ｍＭクエン酸ナトリウム水溶液(ｐＨ７．２)である。

【００７３】

ハイブリダイゼーションは、マイクロアレイ法、ブロット法、例えばノーザンもしくはサザンブロット、ノーザンもしくはサザンハイブリダイゼーション法、ｉｎ ｓｉｔｕｅハイブリダイゼーション、定量ＲＴ-ＰＣＲ法などを含む。

【００７４】

上記（５）の核酸において、上記（１）、（３）又は（４）のヌクレオチド配列を有する核酸の断片は、１５塩基数～全塩基数未満のサイズを有する。断片は、この範囲の任意の塩基数、例えば２０塩基以上、３０塩基以上、５０塩基以上、７０塩基以上、１００塩基以上、１５０塩基以上、２００塩基以上、３００塩基以上、４００塩基以上、５００塩基以上などの塩基数である。

【００７５】

本発明によれば、患者の生物学的試料中の上記表中の各遺伝子セットの１又は２以上の遺伝子について、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間、又はＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間、の相対的発現レベルの差を測定する。

【００７６】

ここで、相対的発現レベルの差とは、ＴＲＵ型腺癌と非ＴＲＵ型腺癌の間或いはＴＲＵ-ａ型腺癌とＴＲＵ-ｂ型腺癌の間で、上記遺伝子セットのある特定の遺伝子の発現レベルを比較したとき、該遺伝子が上記の亜型間で示す発現レベルの差を意味する。本発明では、特定の遺伝子についての好ましい発現レベルの差は、１．５倍以上、より好ましくは２．０倍以上である。

【００７７】

発現レベルの差を示す遺伝子を同定することによって、該遺伝子と肺腺癌の亜型（すなわちＴＲＵ、ＴＲＵ-ａ、ＴＲＵ-ｂ又は非ＴＲＵ型）との関係を明らかにすることができる。これによって、例えば、肺腺癌の亜型を識別することによって患者の術後予後を予測することができるし、或いは、同定された遺伝子が含まれる遺伝子セットと亜型との上記

関係に基づいて肺腺癌を４つの型に分類することができる。
【００７８】
本発明によれば、遺伝子の発現レベルの差は、該遺伝子に対応する核酸又はタンパク質の存在又は量を測定することによって行うことができる。
【００７９】
生物学的試料は、肺癌患者の肺癌組織又細胞を含み、手術によって切除された癌組織、生検によって得られた組織又は細胞などである。
【００８０】
以下に、これらの２つの異なる方法について具体的に説明する。
【００８１】
（核酸による方法）
本発明に関わる３５１個の遺伝子マーカーを検出するために、それらの各マーカーとハイブリダイズする上記核酸を使用する。検出すべき遺伝子の数は、各遺伝子セット毎に１又は２以上であり、好ましくは２以上、５以上、１０以上、２０以上、３０以上、４０以上、５０以上、又は６０以上である。遺伝子の数が多いほど、肺腺癌の亜型の識別の確度が向上する。
【００８２】
ハイブリダイゼーションは、マイクロアレイ法、ブロット法、例えばノーザンもしくはサザンブロット、ノーザンもしくはサザンハイブリダイゼーション法、ｉｎ　ｓｉｔｕｅハイブリダイゼーション法、定量ＲＴ-ＰＣＲ法などの方法で実施することができる。好ましいハイブリダイゼーション法は、マイクロアレイ、定量ＲＴ-ＰＣＲ又はブロット法である。また、好ましいマイクロアレイの例は、ＤＮＡマイクロアレイ及びタンパク質マイクロアレイである。
【００８３】
ＤＮＡマイクロアレイ法では、上記表１～４に列挙した遺伝子（１～全数）とハイブリダイズする核酸プローブを基板に結合したＤＮＡチップを作製し使用する。
【００８４】
ＤＮＡチップは、核酸プローブを固相化できるものであればいずれの種類の基板も使用できる。固相には、例えばガラス、ポリマーなどが含まれ、さらに核酸を共有結合するための反応性基を含むスペーサーやクロスリンカーを導入することができる。このようなチップは市販されているため、それらを使用することが望ましい。
【００８５】
核酸プローブの固相化は、特に制限はないが、一般的な方法、例えばスポッター又はアレイヤーと呼ばれる高密度分注機を用いてＤＮＡをスポットする方法、ノズルから液滴を噴射するインクジェット方式などの方法を用いて実施することができる。
【００８６】
生物学的試料中のＤＮＡ又はＲＮＡ、それから誘導されたｃＤＮＡ、ｃＲＮＡなどの核酸を、Ｃｙ染料（Ｃｒ３又はＣｙ５）などの蛍光物質で標識した核酸を、ＤＮＡチップ上のプローブとハイブリダイズさせる。レーザースキャンによる読み取り装置を用いて蛍光強度を読み取り、コンピュータでデータを解析する。
【００８７】
ブロット法では、本発明の核酸プローブを放射性同位元素（例えば、^{32}Ｐ及び^{35}Ｓ）や蛍光物質（ローダミン誘導体、Ｃｙ染料など）などで標識したのち、ナイロンなどのポリマーメンブレンに転写した生物学的試料中のＤＮＡ又はＲＮＡ、それから誘導されたｃＤＮＡ、ｃＲＮＡなどの核酸との間でハイブリダイゼーションを行う。シグナルを、放射線検出器又は蛍光検出器を用いて検出し、その強度を測定する。
【００８８】
定量ＲＴ－ＰＣＲ法では、生物学的試料中のＲＮＡから作製したｃＤＮＡを鋳型として標的の各遺伝子の領域が増幅できるように、プライマーをｃＤＮＡとアニーリングさせＰＣＲを行い、得られた二本鎖ＤＮＡを検出する。プライマーを予め放射性同位元素や蛍光

物質で標識しておくか、或いは、ＰＣＲ産物をアガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイドなどで二本鎖ＤＮＡを染色するなどの方法で、標的遺伝子を検出、定量することができる。

【００８９】

ＰＣＲ条件は、例えば変性：９２～９４℃で３０～６０秒；アニーリング：５０～５５℃で３０～６０秒；伸長：６８～７２℃で３０～６０秒を１サイクルとして３０～４０サイクルの反応を含む。逆転写酵素は、市販の酵素、例えばＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔ™ＩＩＩ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、米国）、ＡＭＶ Ｒｅｖｅｒｓｅ Ｔｒａｎｓｃｒｉｐｔａｓｅ （Ｐｒｏｍｅｇａ、米国）、Ｍ－ＭＬＶ（ＲＮａｓｅＨ－）（宝酒造、京都）などを使用することができる。

【００９０】

（タンパク質による方法）

上記遺伝子の発現レベルの代替的測定法は、免疫学的方法である。

この方法では、各遺伝子に対応するタンパク質又はその断片を、タンパク質合成又は遺伝子組換え技術を用いて合成し、その結果得られたタンパク質又はその断片を抗原としてウサギ、マウス、ラット、ウマ、ウシ、ヤギ、ヒツジなどの動物を免疫し、それらの抗原に対する抗体を産生し、精製する。

抗体は、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、抗ペプチド抗体などを含む。

【００９１】

ポリクローナル抗体は、前記動物を１０～３００μｇ程度の抗原で皮下に免疫し、さらに約２週間後に追加免疫し、初回免疫から約３週間～1か月後に採血し、抗血清から目的のポリクローナル抗体を含むＩｇＧ成分を硫安分画、イオン交換クロマトグラフィーを使用して分離することを含む方法によって作製することができる。特異性を高めるために、得られたＩｇＧを、目的タンパク質をセルロース又はアガロースなどの担体に結合して作製されたカラムに結合させたのち、高塩濃度のバッファーで溶出し、透析や限外ろ過などの方法で脱塩して、特異的ポリクローナル抗体を得ることができる。抗体価は、通常の免疫測定法、例えば酵素免疫測定法（ＥＩＡ、ＥＬＩＳＡ）、放射性免疫測定法（ＲＩＡ）、蛍光抗体法などによって測定することができる。

【００９２】

モノクローナル抗体は、例えば以下の一般的方法によって作製することができる。

標的タンパク質又はその断片を、ポリクローナル抗体の作製と同様にマウス又はラット（例えばＢａｌｂ／ｃマウス）の皮下に投与し、１～４週間間隔で、約２～４回追加免疫を行う。抗体価が頭打ちになったとき、抗原を静脈内または腹腔内に注射し、最終免疫とする。２～５日後、抗体産生細胞（例えば脾臓細胞又はリンパ節細胞）を採取する。次いで、抗体産生細胞を骨髄腫細胞株（好ましくはヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシル・トランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴ）欠損細胞株）に融合させてハイブリドーマ細胞を生成し、ＨＡＴ（ヒポキサンチン、アミノプテリン、チミジン）選択を行う。細胞融合は、血清を含まないＤＭＥＭ、ＲＰＭＩ－１６４０培地などの動物細胞培養用培地中で、抗体産生細胞と骨髄腫細胞株とを約１：１～ ２０：１の割合で混合し、ポリエチレングリコールなどの細胞融合促進剤の存在下で実施する。目的の抗体かどうかの確認は、上記の免疫測定法によって行うことができる。さらに、ハイブリドーマの増殖のために、マウスの腹腔内にハイブリドーマを約１０００万個投与し、ハイブリドーマを増殖させたのち、１～２週間後に腹水を採取する。抗体の精製は、硫安分画、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィーなどの方法を適宜組み合わせて行うことができる。

【００９３】

抗ペプチド抗体は、タンパク質の表面上のリニアーなペプチドに対する抗体であり、免疫学的特異性を高めることができる。そのようなペプチドは、例えばＫｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅらの親水性-疎水性領域の推定法、Ｅｍｉｎｉらによるタンパク質分子上の特定ペプチド部位の表面に位置する確率、ポリペプチド鎖の折れ曲がり程度、例えばＣｈｏ

ｕ－Ｆａｓｍａｎらなどのαヘリックス、βシート、ターンを表示するタンパク質の二次構造予測、等を単独で又は組み合わせて使用して推定しうる。次いで、推定されたペプチドは、ペプチド合成機を用いて合成することができる。

【００９４】

ここで、標的タンパク質（上記表１～４に示される遺伝子によってコードされる）の合成は、ｃＤＮＡクローンを発現ベクターに組み込み、該ベクターによって形質転換又はトランスフェクションされた原核又は真核宿主細胞を培養することによって該細胞又は培養上清から得ることができる。発現ベクターは市販のものを使用することができる。宿主細胞は、細菌などの原核細胞（例えば大腸菌、枯草菌、シュウドモナス属細菌など）、酵母（例えばサッカロマイセス属、ピチア属など）、昆虫細胞（例えばSf細胞）、哺乳動物細胞（例えばＣＨＯ、ＣＯＳ、ＢＨＫ、ＨＥＫ２９３など）などを含む。また、ベクターは、プラスミド、コスミド、ファージなどからなり、標的タンパク質をコードするＤＮＡ、プロモーター、必要ならエンハンサー、ポリアデニル化シグナル、リボソーム結合部位、複製開始点、ターミネーター、選択マーカーなどを含むことができる。ポリペプチドの精製を容易にするために、標識ペプチド、例えば６～１０残基のヒスチジンタグ、ＦＬＡＧ、ＧＦＰポリペプチドなどをコードするＤＮＡ配列を含有させることもできる。遺伝子組換え技術については、Ｓａｍｂｒｏｏｋら（上記）、Ａｕｓｂｅｌら（上記）に記載されており、それらに記載の技術を本発明のために使用することができる。

【００９５】

上記のようにして得られた標的タンパク質は、ゲルろ過、イオン交換クロマトグラフィー、アフィニティクロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、等電点電気泳動、電気泳動、限外ろ過、塩析、透析などを適宜組み合わせて精製することができる。

【００９６】

標的タンパク質又はその断片の配列は、上記表１～４に記載されるＧｅｎＢａｎｋ登録番号に基づいてＮＣＢＩ　ＨｏｍｅＰａｇｅにアクセスすることによって入手可能である。

【００９７】

上記の抗体を、生物学的試料中の標的タンパク質又はその断片の検出のために使用することができる。多数の抗体をマイクロアレイ基板上に結合したタンパク質マイクロアレイを作製することによって、或いは、多数の抗体をＰＶＤＦ膜などのフィルター上にドット状にスポットすることによって、一度に多数の標的タンパク質を検出又は定量することが可能になる。或いは、慣用の免疫学的測定法、例えば酵素免疫測定法（ＥＬＩＳＡ、ＥＩＡ）、蛍光抗体法、放射性免疫測定法（ＲＩＡ）、発光免疫測定法、免疫比濁法、ラテックス凝集反応、ラテックス比濁法、赤血球凝集反応、粒子凝集反応またはウェスタンブロット法などによって、生物学的試料中の標的タンパク質又はその断片を検出又は定量することができる。

【００９８】

固相上で反応を行うときには、固相担体として、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリエチレンなどのポリマーの膜（フィルター）、プレート、チューブ、ストリップなど、ラテックス、磁性体などの粒子、などが含まれる。固相化は、物理的に或いは化学的に行うことができる。化学的結合のためには、例えばマレイル化試薬、臭化シアンなどの試薬で固相を処理し、タンパク質のアミノ基などと反応する官能基を固相に導入することができる。

【００９９】

標識としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼなどの酵素、フルオレセイン、ローダミン、それらの誘導体などの蛍光物質、ルシフェラーゼ系、ルミノール系などの発光物質、^{32}Ｐ、^{125}Ｉなどの放射性同位元素などが含まれる。標識化は、例えばグルタルアルデヒド法、マレイミド法、ピリジルジスルフィド法、クロラミンＴ法、ボルトンハンター法などを含む。

【０１００】

本発明はまた、上記表１～４に列挙される各遺伝子セットに含まれる遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体の発現を測定するための上記核酸（１）～（５）、或いは該遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体によってコードされるタンパク質又は断片に対する抗体又はその断片、を含む、肺腺癌をもつ患者の術後予後をインビトロで予測するための又は肺腺癌をＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型のいずれかの亜型に分類するための組成物を提供する。

【０１０１】

本発明の実施形態により、前記組成物を構成する核酸又は抗体もしくはその断片を含む、キット又はマイクロアレイが提供される。

本発明のキットでは、上記（１）～（５）に示す核酸であってＴＲＵ型、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂの各遺伝子セット（それぞれ表１～４参照）からの１又は２以上から全数の遺伝子を検出することができる核酸を、遺伝子セット毎に包装する。

【０１０２】

本発明の別のキットは、上記表１～４に列挙される各遺伝子セットに含まれる遺伝子、又はその変異体、同族体もしくは誘導体によってコードされるタンパク質又はその断片に対する抗体又はその断片を、各遺伝子セットに対応するタンパク質セット毎に包装する。

【０１０３】

本発明の組成物に含まれる抗体は、上記の方法で作製されるようなポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、抗ペプチド抗体などであるが、それらに限定されないものとする。抗体の種類は、いずれのタイプ、クラス、サブクラスでもよく、例えばＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＤ、ＩｇＡなどを含む。また、抗体の断片は、Ｆａｂ、$(Fab')_2$、Ｆｖなどを含む。

【０１０４】

キットにはさらに、ハイブリダイゼーションを行うための試薬類、例えばバッファー、逆転写酵素、標識二次抗体などを含有させてもよい。

【０１０５】

本発明のマイクロアレイは、ＤＮＡマイクロアレイ（ＤＮＡチップともいう）又はタンパク質マイクロアレイである。

【０１０６】

これらのマイクロアレイチップにはそれぞれ、上記の核酸（１）～（５）或いは上記の抗体又はその断片が結合される。すなわち、チップの表面に、上記表１～４に列挙される遺伝子セットに含まれる遺伝子又はその変異体、同族体もしくは誘導体とハイブリダイズすることが可能な核酸、或いはそれらの遺伝子によってコードされるタンパク質、又はその変異体もしくは誘導体と免疫学的に特異的に反応する抗体又はその断片が結合される。

【０１０７】

変異体は、上記遺伝子又はタンパク質の完全成熟配列と、ヌクレオチド又はアミノ酸レベルで７０％以上、好ましくは８０％以上、さらに好ましくは９０％以上、９５％以上又は９８％以上の同一性を有するものである。ここで、同一性（％）は、ギャップを導入した公知のＢＬＡＳＴやＦＡＳＴＡプラグラムを用いて決定することができる。一般に、全塩基数に対する一致した塩基数の百分率として同一性（％）を算出できる。

【０１０８】

タンパク質の誘導体は、例えば、グリコシル化、リン酸化、硫酸化、アルキル化、アシル化などの化学修飾誘導体を含む。

【０１０９】

チップの基板としては、ガラス又は樹脂（ポリマー）が通常使用され、その表面に例えばポリＬ-リジン、シラン又は高密度化アミノ基が導入される。

【０１１０】

基板上への核酸又は抗体の結合は、上記のとおり、スポット法又はインクジェット法によって行われる。

【０１１１】
本発明を以下の実施例によってさらに具体的に説明するが、本発明はそれらの実施例によって制限されないものとする。
【実施例】
【０１１２】
Ａ．材料と方法
患者
９０例の腺癌、３５例の扁平上皮癌、１８例の大細胞癌、４例の扁平上皮腺癌及び２例の大細胞神経内分泌癌を含む一連の１４９のＮＳＣＬＣ症例を、愛知県がんセンターの胸部外科（名古屋）で１９９５年１２月から１９９９年１２月の間に治癒的切除術を行い成功した患者のファイルから得た。術後の生存解析のために、腺癌をもつ、かつ、６～１０８か月（中間値７７．０か月；平均６５．１か月）の範囲の追跡期間をもつ症例のうち８２例を使用した。残りの８例はゲフィチニブ治療を受けていたため排除した。すべての腫瘍標本をＯＣＴ化合物に包埋し、正規の検討部門からの必要な承認と患者からのインフォームドコンセントの書面を得たあとで－８０℃に保存した。
【０１１３】
発現プロファイルの取得
腫瘍標本の凍結組織を、ギムザ染色したすべて第１０切片を用いて病理学者の指導下で大まかな顕微解剖にかけた。ＲＮｅａｓｙキット（Ｑｉａｇｅｎ社、米国）を用いて全ＲＮＡを抽出したのち、ＤＮａｓｅ　Ｉで処理した。すべて主要組織型の肺癌を表す２０種の肺細胞系統を使用することによって大バッチの参照ＲＮＡを調製した。全ＲＮＡ２５０ｎｇから、Ｔ７プロモーターを取り込んだポリｄＴプライマーとＭＭＬＶ－ＲＴを用いて、二本鎖ｃＤＮＡを合成した。ｃＲＮＡを作製し、低ＲＮＡ　Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ　Ｌｉｎｉｅａｒ　Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎキット（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社、米国）を用いてＣｙ３又はＣｙ５（Ｃｙ染料；Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｔｅｃｈ社、米国）で標識した。Ｃｙ５-サンプルｃＲＮＡ及びＣｙ３-通常参照ｃＲＮＡを、１８,１７５個のユニーク遺伝子に相当する全２１,６１９スポットを含む注文して作ったＡｇｉｌｅｎｔオリゴヌクレオチドマイクロアレイとハイブリダイズさせたのち、共焦点レーザースキャニング（Ａｇｉｌｅｎｔ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ社、米国）で分析した。スキャンしたイメージ上の蛍光強度を定量し、その値をバックグラウンド値に対し補正し正規化した。
【０１１４】
バイオインフォマティクス解析
解析中の潜在的ノイズをフィルターにかけるため、１０サンプル以上で十分な発現シグナルが得られなかった遺伝子は更なる解析から排除された。さらに、その発現レベルが目的のサンプルセットを通じて３倍未満変化した遺伝子を排除したが、これはそのような遺伝子は有益な情報を提供しうるとは考えられなかったからである。ＣＬＵＳＴＥＲプログラムを用いて、遺伝子と症例の両方の平均連関序列クラスタリングを、メジアンセンタリングと正規化を用いて行い、次いで、ＴＲＥＥＶＩＥＷ（Ｅｉｓｅｎ　ＭＢら，　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　９５：１４８６３－８，　１９９８）によって結果を表示した。特徴的なシグナル抽出手法であるＳＡＭを用いて、患者の肺腺癌亜型の各々に特異的な遺伝子に評点を付けた（Ｔｕｓｈｅｒ　ＶＧら，　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　９８：５１１６－２１，　２００１）。
【０１１５】
ＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓ遺伝子の突然変異分析
ｐ５３（エクソン４～１０）、ＥＧＦＲ（エクソン１５～２４）及びＫ－ｒａｓ（エクソン１～２）遺伝子を、マイクロアレイ分析のために使用した同一のＲＮＡから増幅した。その結果得られたＰＣＲ産物を、先に記載されたと同様に直接配列決定した（Ｋｏｓａｋａ　Ｔら，　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ　６４：８９１９－２３，　２００４）。
【０１１６】

ＧＯ項目に基づいた同定法と他の統計分析

ジーンオントロジー（ＧＯ）（Ａｓｈｂｕｒｎｅｒ Ｍら，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ ２５：２５－９，２０００）を用いた解析により、患者の腺癌亜型の各々に特異的な遺伝子セットの異なる機能の生物学的特徴を明らかにした。このＧＯ分析に使用したデータベースファイルは、ＵｎｉＧｅｎｅのｆｔｐサイト（ｆｔｐ：／／ｆｔｐ．ｎｃｂｉ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｒｅｐｏｓｉｔｏｒｙ／ＵｎｉＧｅｎｅ／）からダウンロードした。マイクロアレイ上のスポットに対応するＵｎｉｇｅｎｅ ＩＤを、本発明者らが新たに開発したＰｅｒｌで書かれたプログラムの支援下で、Ｈｓ．ｓｅｑ．ａｌｌ、Ｈｉｓ ｄａｔａ及び ＬＬ＿ｔｅｍｐｌを含むデータベースファイルを解析することによってＬｏｃｕｓＬｉｎｋ ＩＤを介して対応するＧＯ項目に接続した。最終的に、マイクロアレイ上の１８,１７５個のユニーク遺伝子のうち１２,７４５個の既知の遺伝子が、約６７,０００個のＧＯ項目に対応付けられた。これらの項目のうち、目的の遺伝子セットにおいて有意に頻出する項目をＦｉｓｈｅｒの正確テストによって同定した。

【０１１７】

頻度解析には、χ^2 テスト又はＦｉｓｈｅｒの正確テストを用いた。種々の臨床パラメーターと、発現プロファイルで規定される亜型の発現との関係を調べるために、多変量ロジスティック回帰分析を実施した。Ｋａｐｌａｎ-Ｍｅｉｅｒ法を用いて時間の関数として生存を評価し、生存率の差をｌｏｇ－ｒａｎｋテストで解析した。Ｃｏｘ比例ハザードモデルを用いて、生存に影響を与える独立した因子の解析を行った。解析はすべて、Ｓｔａｔａソフトウエア（ｖｅｒｓｉｏｎ ７；Ｓｔａｔａ Ｃｏｒｐ社、米国）を用いて行い、両側有意レベルがＰ＜０．０５に設定された。

【０１１８】

Ｂ．結果

非小細胞肺癌の発現プロファイル分類

はじめ教師値なしの系統クラスタリング法を用いて１４９個のすべてのサンプルを分類した。このとき、４,８３４個の最も可変的に発現された転写物を用い、個々の腫瘍におけるゲノムワイドの発現パターンの類似性に基づく分子分類法を確立した。その結果得られたクラスターは、十分に確立され広く使用されているＮＳＣＬＣ組織学的分類を精確に再現した（図１）。ＳＡＭ分析は、各クラスターについてアップレグレーション又はダウンレギュレーションを有する異なる遺伝子セットの存在を明らかにし、また、この遺伝子セットは、本発明者ら（Ｔｏｍｉｄａ Ｓら，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ ２３：５３６０－７０，２００４）及び他の研究者ら（Ｇａｒｂｅｒ ＭＥら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：１３７８４－９，２００１；Ｂｈａｔｔａｃｈａｒｊｅｅ Ａら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：１３７９０－５，２００１）によってこれまで報告された遺伝子セットと類似することが判明した。

【０１１９】

本研究では、肺癌の発症の原因であると強く考えられているＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓ遺伝子の突然変異について広範囲にわたる検索を行い、発現プロファイルによって規定される亜型がこれらの遺伝子変化の存在又は非存在と関係があるかどうかを調べた。慣用のＮＳＣＬＣ組織学的分類の明らかに精確な再現と、これら３つの遺伝子変化に関する従来の報告から予測されるように、高度に有意な関係が、ＥＧＦＲ突然変異と対応腺癌の樹形図との間（３６％対０％；Ｐ＜０．００１）で、並びに、ｐ５３突然変異と、ほとんど扁平上皮癌及び大細胞癌からなる樹形図との間（６７％対３３％；Ｐ＜０．００１）で観察された。

【０１２０】

発現プロファイルによって特定される２つの腺癌腫瘍型

この研究中に、本発明者らは、腺癌症例が大きな単一の樹形図として一緒にクラスター化される一方で、２つの主要なサブクラスターがあることに気付いた。この知見は、腺癌の別個の分析を、他のＮＳＣＬＣ組織型の強い特徴が腺癌内で違いを曖昧にする可能性があるという理由のために実施した。この目的のために、腺癌内で最も可変的に発現された

４,１３８個の転写物を用いて行った分類体系的クラスタリングにより、２つの主要な樹形図と、右側樹形図中のさらに２つのサブクラスターの存在が明らかに示された（図２Ａ）。形態学的分析により、細気管支肺胞癌が極右手サブクラスター内に位置するが、他の腺癌亜型又はＷＨＯ分類に準ずる変異体は任意の特定の樹形図内にはっきりとはクラスター化されないことが示された。しかしながら、本発明者らは、右側樹形図内の症例の特徴がＴＲＵ型腺癌、すなわち本発明者らが先にその異なる細胞形態などに基づいて提案した異なる腺癌サブセット（Ｙａｔａｂｅ Ｙら, Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ ２９：６３３－６３９, ２００５； Ｙａｔａｂｅ Ｙら, Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｌ ２６：７６７－７３, ２００２； Ｙａｔａｂｅ Ｙ, Ｅｌｓｅｖｉｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ／Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ, ２００４, ｐｐ１６９－１７９, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）と類似することに気付いた。（（注）便宜的に、右側樹形図と左側樹形図の腫瘍をそれぞれ、ＴＲＵ腺癌及び非ＴＲＵ腺癌と称する。）

【０１２１】

これらの２つの主要な発現プロファイルによって規定される腺癌亜型、すなわち非ＴＲＵ型及びＴＲＵ型、の樹形図及び生物学的性質について更に見識を得るために、ＳＡＭ分析をはじめに行い、示差的に発現された遺伝子を選択した。ＳＡＭ分析において０．１％未満の擬陽性率の有意のレベルでのプレフィルタリングにより１,６５７個の遺伝子を抽出し、これらの遺伝子のうち２８６個の遺伝子が、２以上の倍率でＴＲＵ型と非ＴＲＵ型とでのそれらの発現レベルの間に差異を示した。これらの２８６個の遺伝子は、ＴＲＵ型においてより高い発現を有する１９４個の遺伝子と、非ＴＲＵ型においてより高い発現を有する９２個の遺伝子からなっていた（データを示さず）。ＴＲＵと非ＴＲＵとの間の基本的な機能の差異をより良く理解するために、ＳＡＭで同定した遺伝子セットを、ＧＯ項目を用いて解析した。この方法は本研究のために本発明者らの研究室で開発されたものである。この同定法を用いて、９個の生物学的プロセス、６個の分子機能、及び２個の細胞成分に関係したＧＯ項目が、ＴＲＵ型腺癌に有意に頻出するものとして抽出され、これは正常の肺機能との明らかな関係を示した（表５）。

【０１２２】

【表５】

ＴＲＵ型又は非ＴＲＵ型に有意に関連したジーンオントロジー（ＧＯ）項目

GO態様	GO項目	GOアクセッション	P
TRU型関連GO項目			
生物学的過程：			
	脂質表面張力の調節	GO:0050828	0.002
	性分化	GO:0007548	0.002
	脂質蛋白代謝	GO:0042157	0.013
	先天的免疫応答	GO:0045087	0.014
	中胚葉の発生	GO:0007498	0.018
	リン酸輸送	GO:0006817	0.019
	呼吸器のガス交換	GO:0007585	0.022
	脂質代謝	GO:0006629	0.027
	受精（sensu Metazoa）	GO:0007338	0.030
分子機能：			
	抗原結合	GO:0003823	0.001
	酸化還元酵素活性	GO:0016712	0.002
	酸素結合	GO:0019825	0.003
	リン脂質転位ATPase活性	GO:0004012	0.013
	非特異的モノオキシゲナーゼ活性	GO:0050381	0.032
	ステロイド結合	GO:0005496	0.037
細胞成分：			
	細胞外領域	GO:0005576	0.011
	ミクロゾーム	GO:0005792	0.032
非TRU型関連GO項目			
生物学的過程：			
	ヌクレオチド生合成	GO:0009165	0.002
	細胞周期	GO:0007049	0.003
	循環	GO:0008015	0.003
	クロマチンの樹立及び/又は維持	GO:0006325	0.005
	有糸分裂	GO:0007067	0.014
	妊娠	GO:0007565	0.021
	細胞表面受容体結合性シグナル伝達	GO:0007166	0.036
	表皮の発生	GO:0008544	0.046
分子機能：			
	ポリペプチドN-アセチル-ガラクトサミニル　トランスフェラーゼ	GO:0004653	0.006
	ATP結合	GO:0005524	0.038
細胞成分：			
	可溶性画分	GO:0005625	<0.001
	染色体、中心小体周辺	GO:0000775	0.004
	キネトコア	GO:0000776	0.005
	核	GO:0005730	0.032

【０１２３】

これに対して、非ＴＲＵ型に特異的なものとして同定されたＧＯ項目は、細胞周期及び増殖に関係するものを含んでおり、このことは、非ＴＲＵ型腺癌の固有の攻撃的性質を示唆している。

【０１２４】

腺癌のこれらの非常に確固たる発現プロファイルによって特定される亜型の同定は、独立したデータセットを用いて類似の教師値なしクラスタリング分析により行われた。３４症例の肺腺癌からなるＳｔａｎｆｏｒｄデータセット（Ｇａｒｂｅｒ　ＭＥら，　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　９８：１３７８４－９，　２００１）を、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ－ａ型及びＴＲＵ-ｂ型における区別的発現に関して、３０個の上位にランクされた遺伝子の発現プロファイルに基づいた教師値なしの分類体系的クラスタリングによって解析した。この解析により、サブクラスターをもつ２つの主要な樹形図の明瞭な視覚化が生じた。この樹形図は、本研究で同定された３つの発現プロファイルで特定された腺癌亜型によく対応しているように思われた（図３）。

【０１２５】

発現プロファイルで特定される腺癌亜型を臨床病理学的特徴との有意な関係

次に、種々の臨床病理学的性質と、２つの発現プロファイルで特定される腺癌亜型、すなわちＴＲＵ腺癌及び非ＴＲＵ腺癌、との間の関係を調べた（表６）。

【０１２６】

【表６】

発現プロファイル（ＥＰ）により特定される肺腺癌亜型と臨床病理学的特徴との関係

	EPにより特定される亜型		
臨床的特徴	非TRU	TRU	P
全症例数	37	53	
年齢（歳）			
≦62歳	22	28	0.67
>62歳	15	25	
性別			
男性	26	21	0.005
女性	11	32	
喫煙歴			
非喫煙者	8	37	<0.001
現喫煙者及び過去喫煙者	27	16	
ｐＴ			
T1	14	26	0.72
T2	17	20	
T3	4	4	
T4	2	3	
ｐＮ			
N0	25	35	1.0
N1	3	5	
N2	9	13	
ｐステージ			
I	22	30	0.83
II	6	7	
III	9	16	
侵襲的増殖			
陽性	35	30	<0.001
陽性、限局性	1	14	
陰性又は無視しうる	1	9	
壊死			
陽性	17	6	<0.001
限局性	4	4	
陰性	16	43	

【０１２７】

ＴＲＵ型腺癌は、女性（Ｐ＝０．００５）及び非喫煙者（Ｐ＜０．００１）において、非ＴＲＵ型よりも有意により頻繁にＴＲＵ型腺癌が認められた。一方、詳細な顕微鏡検査により、より高い悪性の可能性/出現と急速な増殖性との指標である、侵襲的増殖及び壊死の存在が、非ＴＲＵ型腫瘍と区別される細胞周期関連のＧＯ項目及び優勢な増殖にしたがって、非ＴＲＵ型において特徴的に広く認められた（侵襲的な増殖及び壊死の双方についてＰ＜０．００１）。年齢、性別、喫煙状態及び病理学的ステージを変数とする多変量ロジスティック回帰分析により、有意に関連する変数として非喫煙状態が同定された（Ｐ＝０．００１）。術後の予後について、本発明者らは、図２に見られるＴＲＵ型腺癌の樹形図下の２つの明らかなクラスター、すなわちＴＲＵ-ａ及びＴＲＵ-ｂ、に属する症例は

、それらの術後の予後の点で区別されることに気付いた。ＴＲＵ-ａ型は非ＴＲＵ型のものと類似した予後を有するのに対して、ＴＲＵ-ｂ型腺癌の予後は非ＴＲＵ型の予後よりも有意に良好であった（Ｐ＝０．０２１；図４）。このことは、顕微鏡検査により、ＴＲＵ-ｂ型腺癌において他の腺癌型に比べてはるかに少ない頻度で明示的な侵襲的増殖が生じたことが示された、という事実と一致するように思われる（Ｐ＜０．００１）。

【０１２８】

発現プロファイルで特定される腺癌の亜型とＥＧＦＲ突然変異状態との有意の関係

ＮＳＣＬＣにおける３つの主要な遺伝子変化のいずれかが、発現プロファイルで特定される腺癌の亜型と有意に関係付けられるかどうかを調べた（図２Ｂ）。ＥＧＦＲ突然変異の存在が、ＴＲＵ型腺癌において、非ＴＲＵ型腺癌におけるよりも有意により多く頻出的であることが判明した（４５．３％対２１．６％；Ｐ＝０．０２６）。また、本発明者らは、ＴＲＵ型腺癌の樹形図下の２つの明らかなクラスター、すなわちＴＲＵ-ａ及びＴＲＵ-ｂ、はＥＧＦＲ突然変異の頻出度の点でわずかに異なっている、すなわちＴＲＵ-ａ型腺癌（４１．２％）についてよりもＴＲＵ-ｂ型腺癌（５２．６％）について、より高いＥＧＦＲ突然変異頻度を示すことに気付いた。これに対して、Ｋ－ｒａｓとｐ５３は腺癌の亜型と相関性を示さなかったが（ｐ５３についてＰ＝０．３３；Ｋ－ｒａｓについて Ｐ＝０．１７）、突然変異頻度の興味深い逆相関が、これらの遺伝子変化とＥＧＦＲ突然変異との間で観察された。非ＴＲＵ型腺癌は、最も高いパーセンテージの、ｐ５３及び/又はＫ－ｒａｓ突然変異（ｐ５３について４１％；Ｋ－ｒａｓについて１６％）を有する腫瘍を含み、次いでＴＲＵ-ａ型（それぞれ２９％及び１２％）、ＴＲＵ-ｂ型（それぞれ２１％及び０％）の順であった。

【０１２９】

ＴＲＵ型腺癌におけるＥＧＦＲ突然変異の予後有意性

本発明者ら及び他の研究者は、ＥＧＦＲ突然変異の存在がＮＳＣＬＣ患者の術後の予後に影響を与えないことを報告しているが（Ｋｏｓａｋａ Ｔら，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ６４：８９１９－２３，２００４；Ｓｈｉｇｅｍａｔｓｕ Ｈら，Ｊ Ｎａｔｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ ９７：３３９－４６，２００５）、このことは、この独立のデータセットにおいて確認された（図５Ａ；Ｐ＝０．４２）。今回の知見が、特にＴＲＵ型の腺癌の発症において、他の肺癌型の発症におけるよりも、ＥＧＦＲ突然変異のより重要な役割を示している可能性があるという理由に基づいて、本発明者らは、ＴＲＵ型腺癌症例の別個の解析を行い、ＥＧＦＲ突然変異と術後の予後との間の潜在的な関係を調べた。有意な関係が、ＴＲＵ型腺癌において術後の悪い予後とＥＧＦＲ突然変異の存在との間で検出された（図５Ｂ；Ｐ＝０．０２４）。この関係はさらに、多変数Ｃｏｘ回帰分析の結果によって確認された（表７）。

【０１３０】

【表７】

ＴＲＵ型肺腺癌についての潜在的予後因子の多変数Ｃｏｘ回帰分析

変数	不良 / 良	危険率	９５％ＣＩ*	Ｐ
年齢	>62 / ≤62	1.09	0.39-3.04	0.87
性別	男性 / 女性	1.03	0.33-3.23	0.96
喫煙歴	あり（現在及び過去）/なし	1.28	0.36-4.53	0.70
ステージ	II-III / I	7.61	2.37-24.5	0.001
サブクラスター	TRU-a / TRU-b	8.25	1.99-34.2	0.004
EGFR状態	突然変異型/野生型	7.71	2.02-29.4	0.003

＊95% CI: 95%信頼区間(confidence interval)

【０１３１】

ＴＲＵ型腺癌でのＥＧＦＲ突然変異の存在は、病気の段階（Ｈ．Ｒ．＝７．６１；Ｐ＝

０．００１）及び発現プロファイルで特定された組織学的亜型（Ｈ．Ｒ．＝８．２５；Ｐ＝０．００３）の他に、独立の予後因子（Ｈ．Ｒ．＝７．７１；Ｐ＝０．００３）を示したが、一方、性別、年齢及び喫煙状態はいかなる有意な関係も示さなかった。

【０１３２】

ＥＧＦＲ突然変異の存在又は非存在下の有意の示差的発現を有する遺伝子の検索

すべての腺癌症例において、ＥＧＦＲ突然変異の存在と関連がある遺伝子を選択するために、５％の擬陽性率といった有意レベルを使用したが、これは、１％の擬陽性率を用いたときにはまったく選択されなかったからである（表８）。

【０１３３】

【表８】

全肺腺癌又はＴＲＵ型肺腺癌におけるＥＧＦＲ突然変異の存在に関係するアップレギュレートされた遺伝子として同定された遺伝子

遺伝子記号	遺伝子名	UniGene ID	差の倍率
全腺癌			
ZDHHC11	Zinc finger, DHHC domain containing 11	Hs.3368851	3.0
GGTLA4*	Gamma-glutamyltransferase-like activity 4	Hs.355394	2.3
LOC401022*	Hypothetical LOC401022	Hs.98661	2.1
CPAMD8	C3 and PZP-like, alpha-2-macroglobulin domain containing 8	Hs.529075	2.1
EST	Transcribed locus	Hs.449965	2.0
UNQ541*	GSGL541	Hs.211267	1.9
RGMA	RGM domain family, member A	Hs.271277	1.8
DNALI1	Dynein, axonemal, light intermediate polypeptide 1	Hs.406050	1.8
MESP1	Mesoderm posterior 1	Hs.447531	1.7
CDKL2*	Cyclin-dependent kinase-like 2	Hs.310540	1.7
EST	Transcribed locus	Hs.553240	1.7
EST	Transcribed locus	Hs.98587	1.6
APOH	Apolipoprotein H (beta-2-glycoprotein I)	Hs.445358	1.6
LGALS3BP	Lectin, galactoside-binding, soluble, 3 binding protein	Hs.514535	1.5
PEX3	Peroxisomal biogenesis factor 3	Hs.7277	1.5
C6orf60	Chromosome 6 open reading frame 60	Hs.443789	1.5
TRU型腺癌			
GGTLA4*	Gamma-glutamyltransferase-like activity 4	Hs.355394	2.4
RAMP1	Receptor (calcitonin) activity modifying protein 1	Hs.471783	1.9
APOH	Apolipoprotein H (beta-2-glycoprotein I)	Hs.445358	1.7
PEX3	Peroxisomal biogenesis factor 3	Hs.7277	1.7
EST	Transcribed locus	Hs.553240	1.6
DHRS7	Dehydrogenase/reductase (SDR family) member 7	Hs.59719	1.5

＊ TRU型及び非TRU型腺癌で示差的に発現された遺伝子でもある。

【０１３４】

ＥＧＦＲ突然変異を有し腫瘍内に２倍以上のアップレギュレーションをもつ５つの遺伝子を同定し、一方、さらに１１の遺伝子がＥＧＦＲ突然変異の存在と関連して１．５～２倍のアップレギュレーションを示した。本発明者らはさらに、有意により高い頻度で出現するＥＧＦＲ突然変異を有するＴＲＵ型腺癌内で特異的にかつ示差的に発現される遺伝子について検索した。ＳＡＭにより遺伝子を選択するためにかなり高い擬陽性率（１０％）を使用する必要があったが、ＥＧＦＲ突然変異の存在下で２倍以上のアップレギュレーシ

ョンを有する単一の遺伝子、すなわちＧＧＴＬＡ４を同定した。さらに８つの遺伝子は、同じ有意差レベルで１．５～２倍のアップレギュレーションを示した（表５）。

【０１３５】

考察

所与の腫瘍での発現プロファイルは、複雑な影響の結果とみなすことができる。このような影響は、病因に重要な蓄積された遺伝子変化、並びに始原細胞の分化－コミットメントの結果によるものである。その理解を求める本研究において、本発明者らは、発現プロファイルによって特定される非常にしっかりした腺癌分類法の確立に成功した。その方法との関連性は、種々の区別的な分子遺伝学的及び臨床病理学的特徴を包含することによって明らかに支持される。２つの主要な亜型、すなわちＴＲＵ型と非ＴＲＵ型は多数の遺伝子の示差的発現を特徴とし、したがって遺伝子使用の点でそれらの有意の差異を示す（Ｙａｔａｂｅ Ｙら，Ａｍ Ｊ Ｓｕｒｇ Ｐａｔｈｏｌ ２９：６３３－６３９，２００５）。本発明者らのＧＯ項目の同定法を用いて得られる結果はさらにそれらの異なる性質を支持する。ＴＲＵ型腫瘍は末梢の肺機能の管理にとって重要である生物学的プロセスによって特徴付けられる（Ｖｅｌｄｈｕｉｚｅｎ ＥＪら，Ｂｉｏｃｈｉｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ａｃｔａ １４６７：２５５－７０，２０００）。同様に、ＴＲＵ型に関連した分子機能はそれらの始原細胞の特徴の保持を反映しているように思われる。対照的に、多くの非ＴＲＵ型関連ＧＯ項目は、細胞周期及び細胞増殖に関連しており、高グレードの特性の顕微鏡所見と一致するように思われる。

【０１３６】

ＴＲＵと非ＴＲＵの亜型間の臨床的特徴の著しい差異はまた、本発明の発現プロファイルで特定される分類法が確固たるものであることを支持している。ＴＲＵ型の注目に値する臨床上の特徴は、女性及び非喫煙者の割合が有意に高いことであり、一方、多変数解析の結果は、独立的に関連した因子として、非喫煙状態を示すが性別を示していないことである。すなわち、この腫瘍型は、喫煙の影響がはるかに少ない中で末梢肺気道細胞から生じるように思われること、並びに、ＧＯ項目ベースの解析によって示されるようにその先祖の特徴を保持するように思われることである。ＴＲＵ-ｂ型は最も好ましい予後を有しており、侵襲的増殖の頻度が小さく、また、ＴＲＵ-ａ型と比較したときでさえ、より高いレベルの種々の分化マーカーを発現する。このことは、ＴＲＵ-ｂ型が他の型よりもより良い正常の末梢肺気道細胞の特徴を保持するがＴＲＵ-ａ型に進行するかもしれないことを示唆している。

【０１３７】

本研究は明らかに、ＥＧＦＲ突然変異の存在が有意にＴＲＵ型腺癌と関連性があることを示している。実際、ＴＲＵ型腺癌症例の４５．３％がＥＧＦＲ突然変異を有しているのに対して、非ＴＲＵ型では２１．６％の発生率である。一方、ｐ５３やＫ－ｒａｓはそれらの突然変異頻度の点で有意な差異を示さなかったが、非ＴＲＵ型において最も高い発生率であるという興味ある逆の傾向があった。ＥＧＦＲ突然変異の存在は、特にＴＲＵ型腺癌について、病気の段階と無関係に術後の短い生存と有意に関係があった。実際、ＴＲＵ型のステージＩＩ／ＩＩＩの病気をもつ患者の５年生存率は、ＥＧＦＲ突然変異の存在下で２５％、その非存在下で７８％であることが判明した。これらの知見から、可能ならゲフィチニブによる集中的なアジュバント療法のための候補薬剤を選択するための、発現プロファイルで特定される亜型とＥＧＦＲの突然変異状態の同時分析の可能な臨床的有用性を示唆している。

【０１３８】

結論として、本研究は、肺癌、特に腺癌における不均質性の存在に対し、遺伝子的及び臨床病理学的に関連する発現プロファイルにより特定された分子分類法を確立することによって、光をあてた。

【０１３９】

Ｃ．ＴＲＵ型腺癌及び非ＴＲＵ型腺癌の識別例

肺腺癌をＴＲＵ型と非ＴＲＵ型に分類するために、シグナル－ノイズ関数（ｓｉｇｎａ

ｌ－ｔｏ－ｎｏｉｓｅ ｍｅｔｒｉｃｓ、Ｇｏｌｕｂら、Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｖｏｌ．２８６，ｐｐ５３１ ｔｏ５３７，１９９９）を用いた。肺腺癌症例群をＴＲＵ型の場合ｃｌａｓｓ1、非ＴＲＵ型の場合ｃｌａｓｓ2とそれぞれ規定した場合、シグナル－ノイズ統計値である重みＳは次式によって計算される（図６）。

$$S=(\mu_{class1}-\mu_{class2}/\sigma_{class1}+\sigma_{class2})$$

【０１４０】

ここで、各遺伝子について、μ_{class1}はｃｌａｓｓ1の全発現強度データの平均値を示し、μ_{class2}はｃｌａｓｓ2の全発現強度データの平均値を示し、σ_{class1}はｃｌａｓｓ1の全発現強度データの標準偏差を示し、σ_{class2}はｃｌａｓｓ2の全発現強度データの標準偏差を示す。

【０１４１】

次に、遺伝子ｘに関する重み付き投票を、下記のWeighted-Voting の計算式を用いて計算する（図７）。

$$V_x=S(G_x-b_x)$$

【０１４２】

ここで、V_Xは、遺伝子ｘに関する重み付き投票を示し、Ｓは上記式によって算出される重みを示し、G_Xは、遺伝子ｘの発現強度（又は発現レベル）を示し、b_Xは、

$$b_X=(\mu 1+\mu 2)/2$$

（ここで、μ1及びμ2は、それぞれclass1、class2の各平均値の平均を示す。）によって示され、２つの群の中心（すなわち、重心）を示す。

【０１４３】

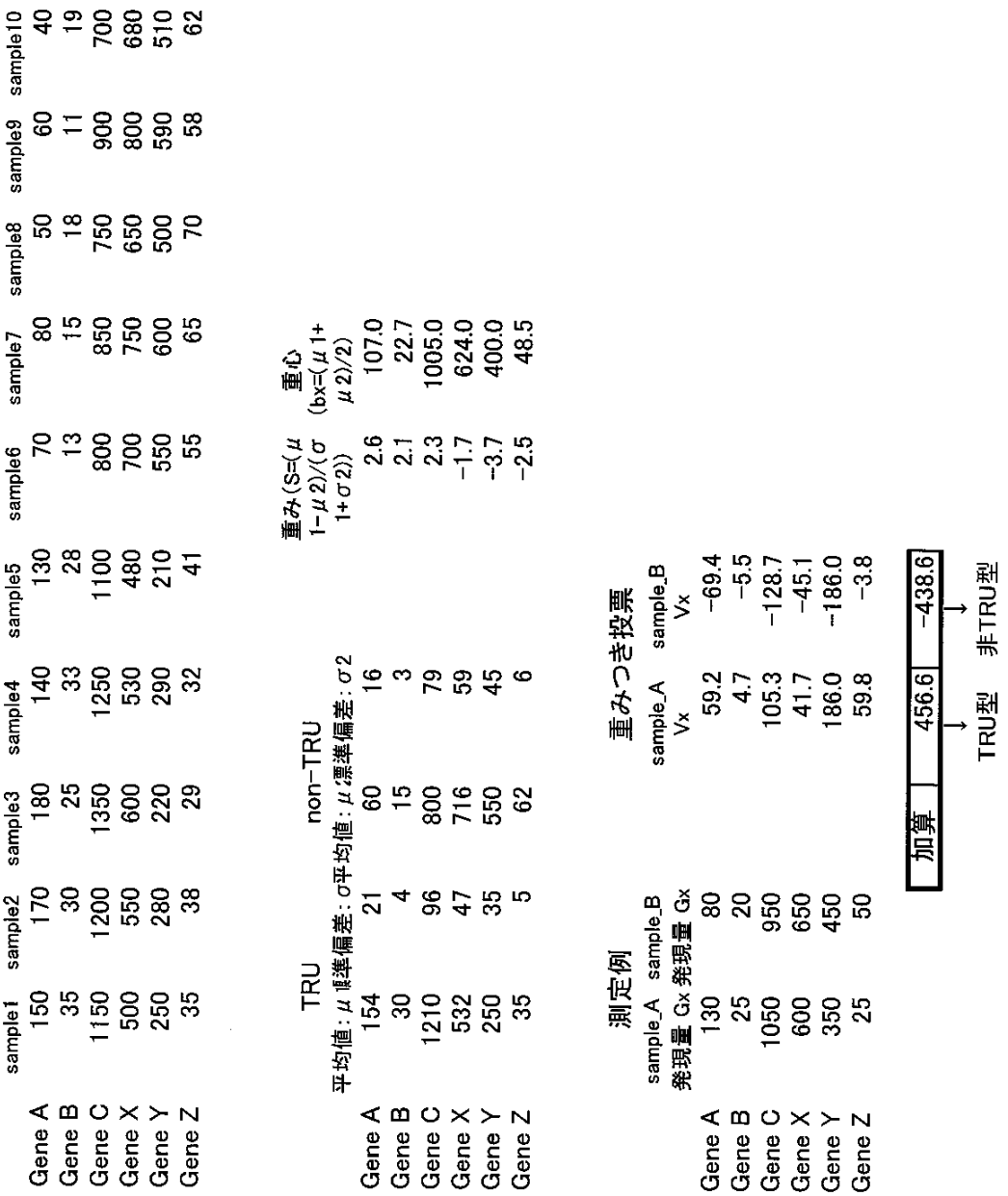
重心からのずれに応じて重みを加算していく手法により、各群のV_Xの総和が０より大きいとき、腺癌はclass1に分類され、V_Xの総和が０より小さいとき、腺癌はclass2に分類される、とすることができる。

【０１４４】

例えば、class1に属するsample1，2，3，4 及び5と、class2 に属するsample6，7，8，9及び10について、遺伝子(Gene)A，B，C（以上、ＴＲＵ特徴遺伝子）、遺伝子(Gene)X，Y,Z（以上、非ＴＲＵ遺伝子）の発現強度（又は発現レベル）を測定し、各群の５つのサンプルの各遺伝子の発現強度の平均値（μ）と標準偏差（σ）を算出し、さらに、上記の式から、重み（S）と重心(b_X)を計算する。この結果を、表９に示す。

【０１４５】

【表９】



【０１４６】

型分類すべきsampleAとsampleBについて、各遺伝子の発現強度（又は発現レベル）を測定し、上記式から重み(S)、$G_x - b_x$を計算して各V_Xを求め、さらに６つの遺伝子のV_Xの総和を求める（図８）。

【０１４７】

その結果、sampleAは、V_Xの総和が０より大きいため、ＴＲＵ型と識別される。また、sampleBは、V_Xの総和が０より小さいため、非ＴＲＵ型と識別される。

【産業上の利用可能性】

【０１４８】

本発明により、肺腺癌患者において腺癌の亜型と術後予後の関係、及びある亜型（ＴＲＵ型）のＥＧＦＲ遺伝子変異と術後予後の関係を予測することが可能となるため、術後の患者に適した治療計画を立てることができる。このように、本発明は、肺腺癌の治療のために医療産業に寄与することが可能である。

【図面の簡単な説明】

【０１４９】

【図１】１４９のＮＳＣＬＣ症例における４つの主要遺伝子変化の教師値なし分類体系的クラスタリング及び分析結果を示す。組織学の行中のボックス（「Ｈｉｓｔ」）は、扁平上皮癌（青色；ＳＱ）、大細胞癌（赤色、ＬＡ）、腺癌（橙色、ＡＤ）、扁平上皮腺癌（灰色）、及び大細胞内分泌癌（黄色）を表す。黒色のボックスは、それらの個々の行において、ＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓ突然変異の存在を示す。試料（列）中の転写物配列（行）の発現指数は、カラーコードによって示されている（図中の底部のバー中の発現指数を参照のこと）。

【図２】９０の肺腺癌症例における４つの主要遺伝子変化の教師値なし分類体系的クラスタリング（ＴＲＵ，非ＴＲＵ(non-TRU)，ＴＲＵ－ａ，ＴＲＵ－ｂ）及び分析結果を示す。図２Ａは、突然変異の分類体系的クラスタリングと検索の結果を示す。発現指数は図１と同様である。図２Ｂは、ＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓ突然変異の頻度(Frequencies of mutations)（％）を示すグラフである。黒色ボックスは、それらの個々の行において、ＥＧＦＲ、ｐ５３及びＫ－ｒａｓ突然変異の存在を示す。顕著な侵襲的増殖は黒色ボックスによって、限局性の侵襲的増殖は灰色ボックスによって、陰性の又は無視しうる侵襲的増殖は白色ボックスによってそれぞれ示されている。

【図３】非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型、及びＳｔａｎｆｏｒｄデータセット（Ｇａｒｂｅｒ ＭＥら，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ９８：１３７８４－９，２００１）を用いて同定されたプロファイリングで特定された肺腺癌サブセットにおける、区別的発現の点で上位にランクされた３０個の遺伝子の発現プロファイルに基づいた、教師値なし分類体系的クラスタリングの結果を示す。発現指数は図１と同様である。この図は、腺癌症例は、体系的にＴＲＵ型と非ＴＲＵ型に大きく分類され、ＴＲＵ型として識別された症例はさらにＴＲＵ-ａ型又はＴＲＵ-ｂ型に分類されることを示している。

【図４】発現プロファイルで特定された肺腺癌亜型のＫａｐｌａｎ-Ｍｅｉｅｒ生存曲線を示す。横軸は術後観察月数(Months after surgery)、縦軸は生存率(Survaival)を示す。また、各術後観察月数における、非ＴＲＵ型、ＴＲＵ-ａ型及びＴＲＵ-ｂ型に分類されたリスク患者数を併せて示した。図から、ＴＲＵ-ｂ腺癌は、非ＴＲＵ型よりも有意に良好な予後を有したが、ＴＲＵ-ａ型の予後は非ＴＲＵ型のものと類似していた。

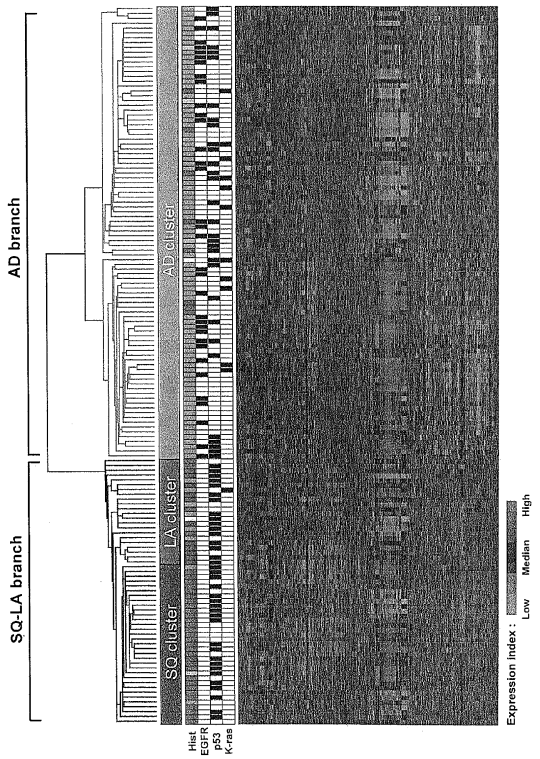
【図５】肺腺癌の全症例及びＴＲＵ型肺腺癌におけるＥＧＦＲ突然変異の存在又は非存在に関するＫａｐｌａｎ-Ｍｅｉｅｒ生存曲線を示す。図５Ａは、ＥＧＦＲ遺伝子変異を有する又は有さない腺癌症例の術後生存曲線を示す。図５Ｂは、ＴＲＵ型腺癌におけるＥＧＦＲ遺伝子変異の存在又は非存在に関する術後生存曲線を示す。横軸は術後観察月数(Months after surgery)、縦軸は生存率(Survaival)を示す。また、各術後観察月数における、野生型又は突然変異型ＥＧＦＲ（それぞれwt-EGFR、 mut-EGFR）をもつリスク患者数を併せて示した。

【図６】重み(S)の計算式を示す。

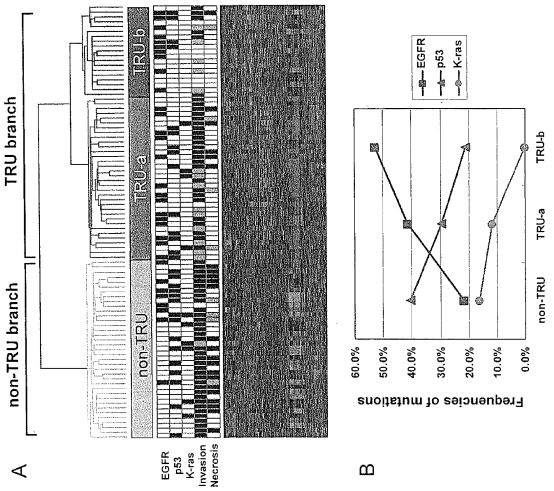
【図７】Weighted-Voting（重み付き-投票）の計算式とその意味を示す。

【図８】Weighted-Votingによる判別モデルを示す。

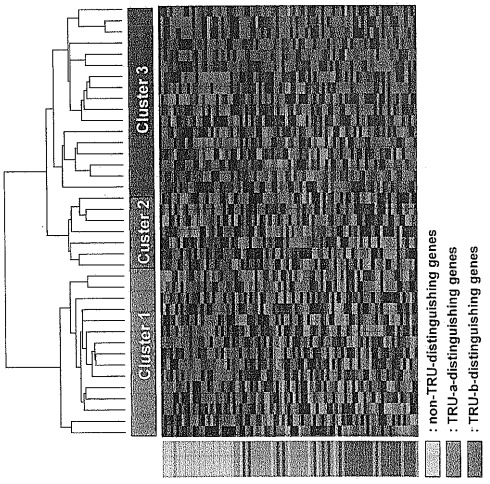
【図１】


AD branch
SQ-LA branch
SQ cluster
LA cluster
AD cluster
Hist
EGFR
p53
K-ras
Expression Index :
Low
Median
High

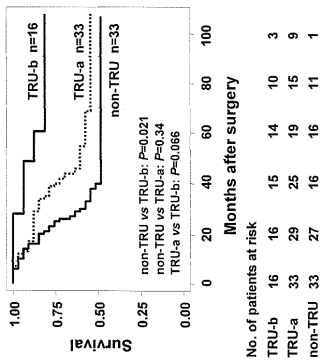
【図２】


non-TRU branch
TRU branch
non-TRU
TRU-a
TRU-b
EGFR
p53
K-ras
Invasion
Necrosis
A
B
EGFR
p53
K-ras
60.0%
50.0%
40.0%
30.0%
20.0%
10.0%
0.0%
non-TRU
TRU-a
TRU-b
Frequencies of mutations

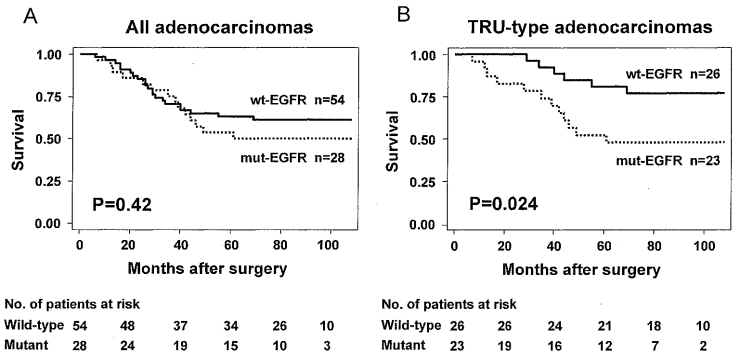
【図３】


Cluster 1
Cluster 2
Cluster 3
: non-TRU-distinguishing genes
: TRU-a-distinguishing genes
: TRU-b-distinguishing genes

【図４】


TRU-b n=16
TRU-a n=33
non-TRU n=33
non-TRU vs TRU-b: P=0.021
non-TRU vs TRU-a: P=0.34
TRU-a vs TRU-b: P=0.066
Survival
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
0
20
40
60
80
100
Months after surgery
No. of patients at risk
TRU-b 16 16 15 14 10 3
TRU-a 33 29 25 19 15 9
non-TRU 33 27 16 16 11 1

【図５】



【図６】

重み(S)の計算式

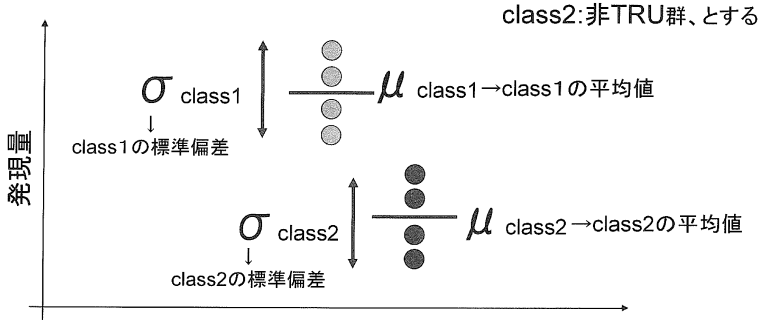
$$S=\frac{\mu_{class1}-\mu_{class2}}{\sigma_{class1}+\sigma_{class2}}$$ 、ここで

μ：平均値

σ：標準偏差

class1:TRU群

class2:非TRU群、とする



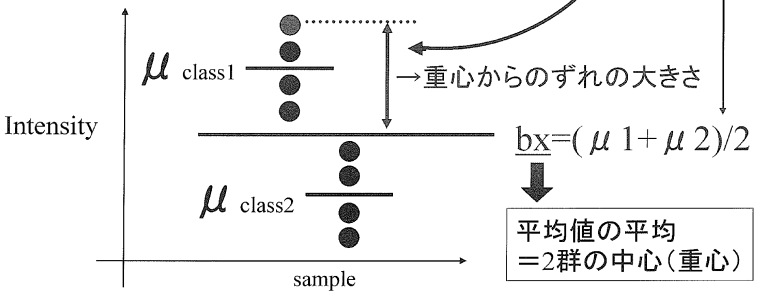
【図７】

Weighted-Votingの計算式とその意味

遺伝子xに関する重み付き投票：$Vx=\underline{S}\times(Gx-\underline{bx})$

→重心からのずれに応じて、
重みを加算していく手法
→Vx>0ならclass 1、
→Vx<0ならclass 2として判別

重み



【図８】

Weighted-Votingによる判別モデル

重み付き　投票

		Sample A		Sample B	
Predictive gene	weight (S)	(Gx-bx)	Vx	(Gx-bx)	Vx
TRU特徴遺伝子					
Gene A	2.6	+23.0	**59.2**	-27.0	**-69.4**
Gene B	2.1	+2.3	**4.7**	-2.7	**-5.5**
Gene C	2.3	+45.0	**105.3**	-55.0	**-128.7**
非TRU特徴遺伝子					
Gene X	-1.7	-24.0	**41.7**	+26.0	**-45.1**
Gene Y	-3.7	-50.0	**186.0**	+50.0	**-186.0**
Gene Z	-2.5	-23.5	**59.8**	+1.5	**-3.8**
total			**456.6**		**-438.6**
judge			**TRU型**		**非TRU型**

【配列表】
0005688497000001.app

フロントページの続き

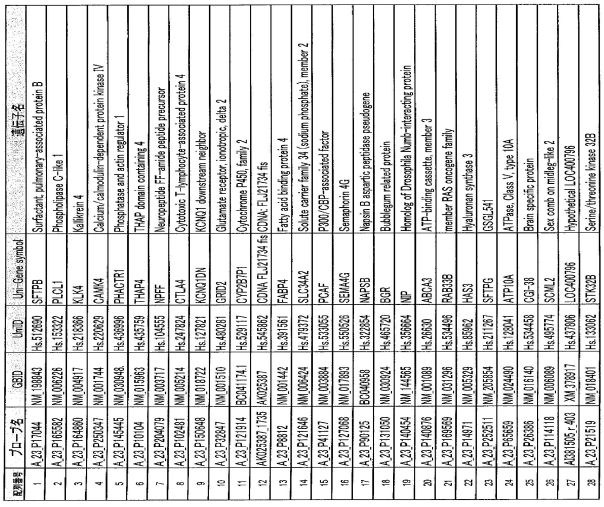
(72)発明者　高橋　隆
愛知県名古屋市千種区不老町１番　国立大学法人名古屋大学内
(72)発明者　冨田　秀太
愛知県名古屋市千種区不老町１番　国立大学法人名古屋大学内
(72)発明者　谷田部　恭
愛知県名古屋市千種区鹿子殿１番１号　愛知県がんセンター内
(72)発明者　光冨　徹哉
愛知県名古屋市千種区鹿子殿１番１号　愛知県がんセンター内
(72)発明者　竹内　俊幸
東京都江東区青海二丁目４５番　社団法人バイオ産業情報化コンソーシアム内

合議体
審判長　郡山　順
審判官　三原　健治
審判官　鈴木　恵理子

(56)参考文献　PNAS, Vol. 98, No. 24（2001）p. 13784－13789
Am. J. Surg. Pathol., Vol. 26, No. 6（2002）p. 767－773
Clin. Cancer Res., Vol. 11, No. 17（Sept. 2005）p. 6177－6185

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
C12Q 1/68
C12N 15/00-15/90
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍ３）
ＣＡｐｌｕｓ／ＢＩＯＳＩＳ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＷＰＩＤＳ／ＷＰＩＸ（ＳＴＮ）

专利名称(译)	预测肺腺癌患者术后预后的方法和组成		
公开(公告)号	JP5688497B2	公开(公告)日	2015-03-25
申请号	JP2005291588	申请日	2005-10-04
[标]申请(专利权)人(译)	国立大学法人名古屋大学 日本生物信息协会		
申请(专利权)人(译)	国立大学法人名古屋大学 爱知県 日本生物信息协会		
当前申请(专利权)人(译)	国立大学法人名古屋大学 爱知県 一般日本生物信息协会		
[标]发明人	高橋隆 冨田秀太 谷田部恭 光冨徹哉 竹内俊幸		
发明人	高橋 隆 冨田 秀太 谷田部 恭 光冨 徹哉 竹内 俊幸		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 G01N33/53 G01N37/00		
CPC分类号	G01N33/57423 C12Q1/6809 C12Q1/6886		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A G01N33/53.D G01N33/53.M G01N37/00.102 C12Q1/68.AZN.A C12Q1/6809.C C12Q1/6809.Z C12Q1/6886.C C12Q1/6886.Z		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/HA12 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ53 4B063/QQ79 4B063/QQ96 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QR55 4B063/QS32 4B063/QX02		
其他公开文献	JP2007097486A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种预测肺腺癌感染患者预后的新方法。解决方案：本发明提供了一种通过使用TRU型和非TRU型中的任何一种来鉴定肺腺癌的方法。特定基因组，当肺腺癌被鉴定为TRU型肺腺癌时，进一步鉴定TRU型肺腺癌至TRU-a型和TRU-b型中的任一种，并根据术后预后的关系预测患者的体外预后。肺腺癌和亚型，一种将肺腺癌分类为亚型之一的方法和用于这些方法的组合物。