

## メッセンジャー・スケープ(HiCEP)解析を用いた her2(c-erbB2)バリエント発現量変動解析

メッセンジャー・スケープ (HiCEP) 解析は、再現性・感度および網羅性に優れた遺伝子発現解析方法です。この技術を利用して、乳がん組織における her2 転写産物の発現解析を行い、her2 バリエントの発現変動と乳がん転移性との相関を見出す結果を得ました。本稿では、その概要を紹介させていただきます。

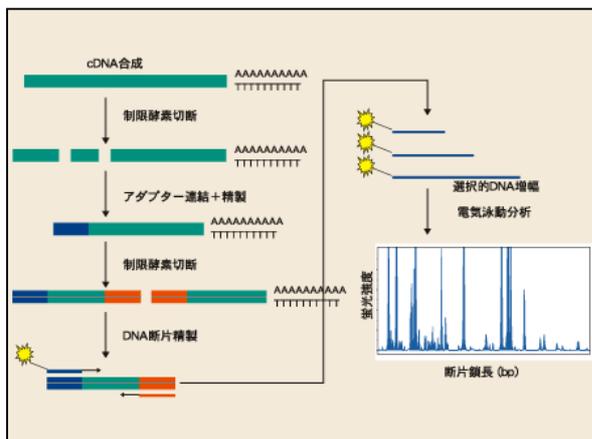
### 【はじめに】

HER2 は、細胞膜にある EGF レセプター様タンパク質の一種で、乳がんの 20~30% で強く発現していることが知られています。また、転移性や予後との関連も報告されており、臨床現場では、この HER2 タンパク質を標的としたモノクローナル抗体 (ハーセプチン) を用いた治療が実用化されています。現在、この治療法は HER2 タンパク質強発現乳がんの予後を改善するものと期待されています。

この HER2 タンパク質をコードする her2 (c-erb2) 遺伝子は、17 番染色体上にコードされており、種々のバリエントが報告されています。このバリエント発現量と乳がん転移性に注目し、ヒト乳がん組織由来転写産物の解析を行いました。

### 【実施方法】

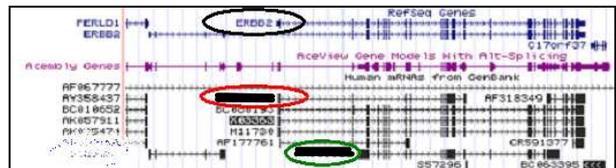
市販ヒト乳がん組織由来転写産物 (転移確認済み・転移なし確認済み) を解析用サンプル (Total RNA=各 1 μg) とし、メッセンジャー・スケープ社において受託解析に用いている方法で HiCEP 解析を行いました。具体的には、図 1 に記載されているように、①cDNA 合成、②制限酵素切断、③アダプター連結+精製、④制限酵素切断、⑤DNA断片精製、⑥選択的 DNA 増幅、⑦電気泳動分析によるフラグメント分析の工程を行い、最終的に約 26,000 種類の転写産物をプロファイリングしました。



【図 1】 HiCEP 解析方法

### 【結果および考察】

ゲノム上では her2 (c-erb-b2) 遺伝子は、代表配列である NM\_004448 (ERB2) をはじめとして、図 2 に示されるようなエクソン・イントロン構造をとっています。そのうちの、3 種の her2 バリエ

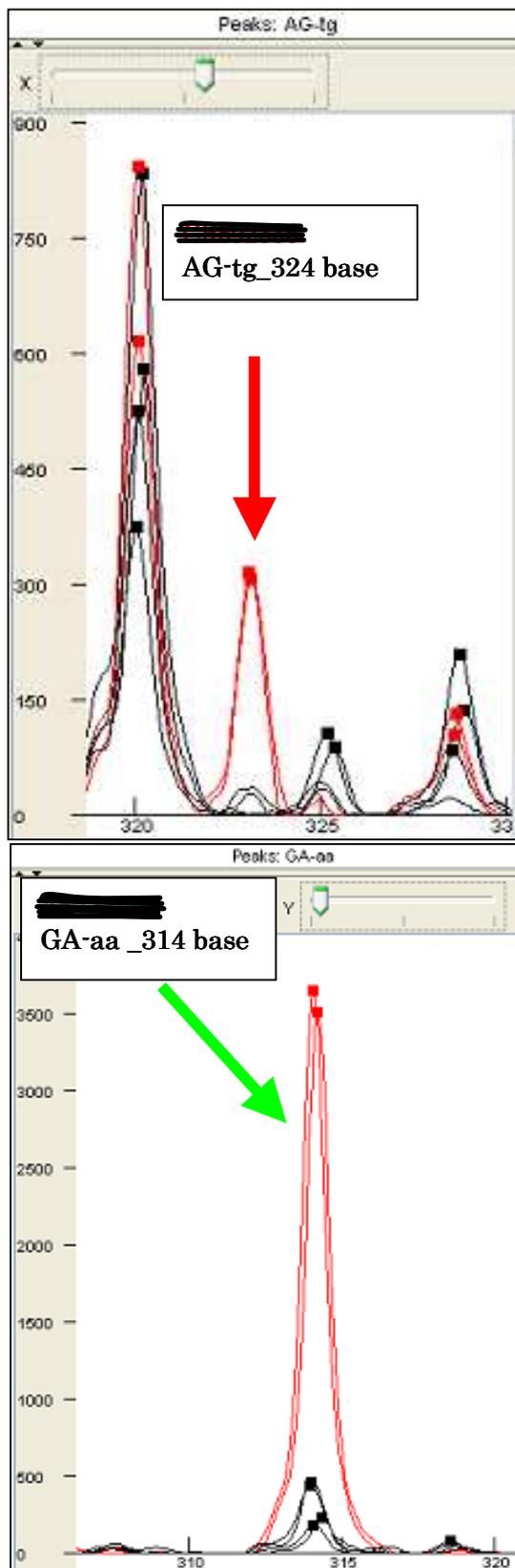


アクセッション 番号	表示	予測フラグメント	
		末端配列	鎖長
NM_004448	○	GC-tt	1192
■■■■■■■■■■	○	AG-tg	324
■■■■■■■■■■	○	GA-aa	314

【図 2】 her2 バリエントと HiCEP フラグメント予測

ト(c-erb-b2 バリエント)に注目し、HiCEP 解析により取得されるであろうフラグメントを予測しました。残念ながら、代表配列である NM 004448 (ERB2) については、HiCEP 解析において観測が困難となる鎖長 (1,000 ベース以上) のフラグメントが予測され、今回の解析対象からは除外しました。予測した 2 種の her2 バリエントについての HiCEP 解析結果を図 3 に示します。選択的 DNA 増幅の際の末端配列および予測フラグメント鎖長に該当する部分において明瞭なピークが確認され、加えて当該ピークの塩基配列を確認することで、該当ピークが予測した転写産物である点を合わせて確認しました。

乳がんの転移に着目しますと、各チャートの赤ラインで示した「転移確認済みサンプル」と黒ラインで示した「転移なし確認済みサンプル」では、各バリエントで明確な転写産物量 (遺伝子発現量) の差異が認められます。具体的には、「■■■■■■■■■■」および「■■■■■■■■■■」として示される 2 種のバリエントについては、明らかに



**【図3】 her2バリエントのHiCEP解析結果**

赤ラインは「転移確認済み乳がん組織サンプル」(1検体:2回解析分)を、黒ラインは「転移なし確認済み乳がん組織サンプル」(2検体:各2回解析分)を示す。

「転移確認済みサンプル」が、より多く発現しています。また、この2種については「転移なし確認済みサンプル」では、ほとんど発現していないことがわかります。これは、この2種の her2 バリエントの発現量と乳がん転移の相関を示し、各バリエントの発現制御機構と乳がん転移の分子機構の解明に興味深い示唆を投げかけるものと考えます。また、HiCEP 解析では、her2 と同様の挙動を示す転写産物を一望のもとに把握することが可能であり、これらの発現変動関連性の解明を通して、俯瞰的なネットワーク反応を研究することに資するものと考えます。

上記の例で示しますように、HiCEP 解析には以下の特徴があり、従来技術では作業の煩雑さや高コストが必須であった疾患マーカー探索や疾患機構解明を、より簡単に・より包括的に遂行するための最適ツールとしてご利用いただけるものと考えます。

1. 転写産物を網羅的に解析できることに加え、再現性よく発現変動をとらえることが可能。
2. 遺伝子バリエントなどの発現変動を個々に解析できるとともに、同時一括して比較検討できる。
3. がん組織などに代表されるような、発現遺伝子の種類と量が高度に変動していると考えられるサンプルについても、より正確で再現性の高い遺伝子発現プロファイリングが可能。
4. 比較的少ないサンプル量 (Total RNA : 1  $\mu$ g 以上) にて解析が可能。

詳細につきましては、メッセンジャー・スケープ株式会社、または販売代理店にお問合せください。

**メッセンジャー・スケープ株式会社**

〒151-0072  
 東京都渋谷区幡ヶ谷 3-20-2 TSビル 101  
 TEL : 03-5333-9805 FAX : 03-3378-7247  
<http://www.mscape.co.jp>  
[info@mscape.co.jp](mailto:info@mscape.co.jp)

販売代理店 :