







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 5 3 1 号	氏 名	成 松 隆 弘
審 査 委 員 会 委 員		主査氏名	猪 股 雅 史 
		副査氏名	上 村 尚 人 
		副査氏名	松 平 重 清 
<p>論文題目                  Downregulation of NDUF6 due to 9p24.1-p13.3 loss is implicated in metastatic clear cell renal cell carcinoma                  (9p24.1-p13.3 loss による NDUF6 の発現低下は転移性腎臓明細胞癌に関与する)</p> <p>論文掲載雑誌名                  Cancer Medicine</p> <p>論文要旨</p> <p>腎臓明細胞癌の転移に関わるメカニズムは未だ明らかでない。今回、同一症例の原発巣と転移巣のゲノムプロファイルを比較し、転移に関わるゲノム異常および遺伝子を同定することを目的とした。原発巣 20 例とその転移巣のホルマリン固定パラフィン包埋組織、さらに別症例の原発巣 30 例の凍結組織を対象とした。ゲノム解析は array CGH 法、RNA 解析は凍結組織にて quantitative RT-PCR を行った。腎癌細胞株 786-O、769-P を用いて、レンチウイルスによる遺伝子の過剰発現、siRNA によるノックダウンを行い、細胞増殖能、アポトーシス、浸潤能、遊走能、EMT 関連遺伝子の発現を解析した。さらに、The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network のデータベースを用いて、腎臓明細胞癌 405 例の遺伝子発現、DNA コピー数および予後の相関を解析した。array CGH 解析では、9p loss が転移巣で高頻度に検出され、予後と相関した。9p loss を有する原発巣は、転移巣と類似のゲノムプロファイルを有していた。9p 領域の 58 遺伝子の中で、ゲノムコピー数 loss に伴って発現低下する NDUF6 と LRRC19 の 2 遺伝子が同定された。腎癌細胞株を用い過剰発現およびノックダウンすると、NDUF6 の発現低下がその増殖と関与した。さらに TCGA から得た腎臓明細胞癌 405 例でも NDUF6 のゲノムコピー数とその発現は正に相関し、早期再発と相関していた。9p loss を原発巣で既に認める症例は早期に転移することから、9p loss は予後予測に有用と思われた。NDUF6 は、9p loss に伴う発現低下により腎臓明細胞癌の増殖を亢進させ転移を引き起こすと考えられた。</p> <p>本研究は、腎臓明細胞癌の転移に関わる遺伝子として 9p loss が重要な役割を担い、その中で NDUF6 遺伝子の発現低下が増殖を亢進させ転移を引き起こす可能性を明らかにしており、臨床における転移予測因子の診断や分子標的治療につながる有用な研究と考えられた。</p> <p>このため、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験  
の結果の要旨  
学力の確認

審査区分 (課)・論	第531号	氏名	成松隆弘
審査委員会委員	主査氏名	猪股雅史 	
	副査氏名	上村尚人 	
	副査氏名	松本重清 	
<p>学位申請者は本論文の公開発表を行い、各審査委員から、研究の目的、方法、結果、考察について、以下の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1、腎淡明細胞癌の臨床像の特色は何か？5年生存率や再発形式の特徴は何か？</li> <li>2、本研究に着手した臨床的疑問点や動機は何か？</li> <li>3、組織をサンプリングする際に組織多様性を考慮したか？</li> <li>4、今回はE-cadherinの発現しない細胞株を用いているが、上皮間葉転換(EMT)の有無を評価する場合、E-cadherinを発現する他の細胞を用いて検討を加えるべきではないか？</li> <li>5、Table 2には多くのゲノムのgainとlossが示されている。9p loss以外にも、無再発生存期間や生存率に関連している遺伝子変異は存在するか？</li> <li>6、NDUFB6はゲノムコピー数のlossに伴い発現低下しているが、対立遺伝子の異常に関する解析は行っているか？</li> <li>7、今回、NDUFB6遺伝子導入により、アポトーシスおよび浸潤能、遊走能、EMT関連遺伝子の発現に変化が生じなかった。その理由としてどのようなことが考えられるか？</li> <li>8、ROSの増加によりEMTが生じる場合、ミトコンドリアに機能的、形態学的な変化が認められるか？</li> <li>9、NDUFB6の蛋白構造は決定しているのか？</li> <li>10、本研究では遺伝子発現の違いにより、癌の進行に明らかな差がみられた。このような大きな臨床的な差異を、本研究を開始するにあたり予測していたのか？</li> <li>11、NDUFB6を正常に戻すための手段があれば治療法につながると思われる。具体的な方法は考えられるか？またROSをターゲットにした治療法の可能性はあるか？</li> <li>12、NDUFB6遺伝子の診断学的な臨床応用に関して、どのような戦略が考えられるか？</li> </ol> <p>これらの質疑に対して、申請者はおおむね適切に回答した。よって審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は2本線で抹消すること。

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 成松 隆弘

## 論 文 題 目

Downregulation of NDUFB6 due to 9p24.1-p13.3 loss is implicated in metastatic clear cell renal cell carcinoma

(9p24.1-p13.3 loss による NDUFB6 の発現低下は転移性腎淡明細胞癌に関与する)

## 要 旨

【目的】 Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) の転移に関わるメカニズムはまだ明らかでない。そこで、同一症例の原発巣と転移巣のゲノムプロファイルを比較し、転移に関わるゲノム異常および遺伝子を同定することを目的とした。

【研究対象及び方法】 ccRCC 原発巣 20 例とその転移巣のホルマリン固定パラフィン包埋組織、さらに別症例の原発巣 30 例の凍結組織を対象とした。全ての症例から DNA を抽出し array comparative genomic hybridization (CGH) を行った。また、原発巣 30 例の凍結組織から RNA を抽出し quantitative RT-PCR を行った。腎癌細胞株 786-O および 769-P を用いて、レンチウイルスによる遺伝子の過剰発現、あるいは siRNA によるノックダウンを行い、細胞増殖能、アポトーシス、浸潤能、遊走能および epithelial-mesenchymal transformation (EMT) 関連遺伝子の発現を解析した。さらに、The Cancer Genome Atlas (TCGA) Research Network のデータベースを用いて、ccRCC 405 例の遺伝子発現、DNA コピー数および予後の相関を解析した。

【結果】ccRCC原発巣と同一症例の転移巣各20例のarray CGH解析を行い比較した結果、9p24.1-p13.3 lossは転移巣で高頻度に検出され、予後と相関した。9p24.1-p13.3 lossを有する原発巣は、転移巣と類似のゲノムプロファイルを有していた。次に、ゲノムコピー数 lossに伴って発現低下する9p24.1-p13.3領域の遺伝子を探索するため、別のccRCC原発巣30例を用いて、同領域の58遺伝子についてゲノムコピー数と遺伝子発現の相関を調べた結果、NDUFB6とLRRC19の2遺伝子が同定された。これらを腎癌細胞株786-Oおよび769-Pに過剰発現させると、NDUFB6のみが増殖能の抑制を示した。siRNAを用いてNDUFB6をノックダウンすると増殖能は増加した。アポトーシス、浸潤能、遊走能およびEMT関連遺伝子の発現は変化しなかった。さらにTCGAから得たccRCC405例でもNDUFB6のゲノムコピー数とその発現は正に相関し、ゲノムコピー数および発現の低下は早期再発と相関していた。

【考察】9p24.1-p13.3 lossを原発巣で既に認める症例は早期に転移することから、9p24.1-p13.3 lossは予後予測に有用と思われた。NDUFB6は、9p24.1-p13.3 lossに伴う発現低下により腎癌細胞の増殖を亢進させ転移を引き起こすと考えられた。

【結語】ccRCCの転移には9p24.1-p13.3 lossが重要であり、NDUFB6の発現低下が転移に関与していると考えられた。