

学位論文審査の結果の要旨

審査区分 (課)・論	第 号	氏 名	吉本 多一郎
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	白尾 国昭	
	副査氏名	西園 晃	
	副査氏名	駄阿 勉	
論文題目: High-resolution analysis of DNA copy number alterations and gene expression in renal clear cell carcinoma (腎淡明細胞癌における DNA コピー数異常とその遺伝子発現の網羅的解析) 論文掲載誌名: Journal of Pathology 論文要旨: 【緒言】 従来、癌遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活化は、ゲノムコピー数に異常のある染色体領域に起こりやすいと報告されてきた。本試験では、腎細胞癌臨床検体よりゲノム DNA を抽出し、アレイ CGH 法を用いてゲノムコピー数異常を網羅的に高解像度で解析した。さらに、同一検体より RNA を抽出し、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子発現異常を解析し、ゲノムコピー数異常が実際に遺伝子発現に影響を与えているのか検討した。【研究対象および方法】 大分大学医学部付属病院泌尿器科で摘出された腎細胞癌凍結検体 30 例を用いた。淡明細胞癌 26 例、嫌色素細胞癌 4 例であった。この 30 例全例よりゲノム DNA を抽出し、アレイ CGH 解析を行った。また、淡明細胞癌 26 例中、22 例より RNA を抽出し、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて網羅的発現解析を行った。【結果と考察】 淡明細胞癌においては 5q33.1-qter (58%)、7q11.22-q35 (35%)、16p12.3-p13.12 (19%) にコピー数の gain を認めた (頻度)。また、3p25.1-p25.3 (77%)、3p21.31-p22.3 (81%)、3p14.1-p14.2 (77%)、8p23.3 (31%)、9q21.13-qter (19%)、14q32.32-qter (38%) にコピー数の loss を認めた (頻度)。これらゲノムコピー数の異常パターンは淡明細胞癌と嫌色素性細胞癌で全く異なっていた。アレイ CGH の結果、特定の領域でゲノムコピー数異常を認めた群と認めなかった群の二群に分けて、有意に差があった遺伝子を抽出したところ、有意に発現が上昇していた遺伝子は 5 番染色体と 7 番染色体上に多く存在していた。反対に、発現が低下していた遺伝子は 14 番染色体と 3 番染色体上に多く存在していた。以上より、腎淡明細胞癌において、ゲノムコピー数異常と遺伝子発現が相関していることが示唆された。最後に核異型度とゲノムコピー数異常の相関について検討し、14q loss が核異型度の高度な腎淡明細胞癌に新たに付加されている異常であることを見いだした。また、核異型度について low-grade 群と high-grade 群に分けて遺伝子発現を比較したところ、発現の低下している遺伝子は 14 番、9 番染色体上に存在する傾向があった。これらの知見は high-grade 群の淡明細胞癌において、14q loss がその部位に存在する遺伝子の発現低下に関与することを示唆している。【結語】 腎淡明細胞癌において、ゲノムコピー数の異常は遺伝子発現に影響を与えていた。また核異型度が高度で予後不良な腎淡明細胞癌への進展に重要な遺伝子が、14 番染色体長腕に存在する可能性が示唆された。 以上、本研究は腎淡明細胞癌において、ゲノムコピー数の異常が遺伝子発現に影響を与えること、核異型度に関連する遺伝子が 14 番染色体に存在する可能性があることをはじめて明らかにした意義ある研究である。よって審査委員の合議により本論文は学位論文に値すると判定した。			

学 位 論 文 要 旨

氏名 吉本 多一郎

論 文 題 目

High-resolution analysis of DNA copy number alterations and gene expression in renal clear cell carcinoma

(腎臓明細胞癌における DNA コピー数異常とその遺伝子発現の網羅的解析)

要 旨

【緒言】従来、癌遺伝子の活性化や癌抑制遺伝子の不活化は、ゲノムコピー数に異常のある染色体領域に起こりやすいと報告されてきた。このため、癌患者におけるゲノムコピー数の変化を詳細に解析することは分子レベルでの発癌、進展のメカニズムを知るために有効なアプローチと言える。これまで、腎細胞癌では従来の CGH によるゲノムコピー数異常の解析は多数報告されてきた。また遺伝子発現レベルでは、染色体異常・転移・予後不良などの因子と関連した遺伝子発現異常が腎細胞癌でも報告されてきた。しかし、網羅的に解析した報告はない。また、腎細胞癌において、ゲノムコピー数異常が実際に遺伝子発現異常に影響を与えているのか否かは、まだ明らかにされていない。そこで今回我々は、腎細胞癌臨床検体よりゲノム DNA を抽出し、アレイ CGH 法を用いてゲノムコピー数異常を網羅的に高解像度で解析した。さらに、同一検体より RNA を抽出し、オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて網羅的に遺伝子発現異常を解析し、ゲノムコピー数異常が実際に遺伝子発現に影響を与えているのか検討した。

【研究対象および方法】

大分大学医学部附属病院泌尿器科で摘出された腎細胞癌凍結検体 30 例を用いた。組織型の内訳は、淡明細胞癌 26 例、嫌色素性細胞癌 4 例であった。この 30 例全例よりゲノム DNA を抽出し、アレイ CGH 解析を行った。使用した CGH アレイは 2304 個の BAC/PAC クローンを搭載し、平均解像度は 1.3Mbp であった。また、淡明細胞癌 26 例中、22 例より RNA を抽出し、オリゴヌクレオチドマイクロアレイ (Agilent 社製 44k オリゴアレイ) を用いて網羅的発現解析を行った。

【結果と考察】

淡明細胞癌においては 5q33.1-qter (58%)、7q11.22-q35 (35%)、16p12.3-p13.12 (19%) にコピー数の gain を認めた (カッコ内は頻度を表す)。また、3p25.1-p25.3 (77%)、3p21.31-p22.3 (81%)、3p14.1-p14.2 (77%)、8p23.3 (31%)、9q21.13-qter (19%)、14q32.32-qter (38%) にコピー数の loss を認めた (カッコ内は頻度を表す)。一方で、これらゲノムコピー数異常のパターンは淡明細胞癌と嫌色素性細胞癌で全く異なっていた。続いて、これらゲノムコピー数異常と発現異常の相関について検討した。アレイ CGH の結果、特定の領域でゲノムコピー数異常を認めた群と認めなかった群の二群に分けて、有意に差があった遺伝子を抽出した。その結果有意に発現が上昇していた遺伝子は 5 番染色体と 7 番染色体上に多く存在していた。反対に、発現が低下していた遺伝子は 14 番染色体と 3 番染色体上に多く存在していた。これらのことは腎淡明細胞癌において、ゲノムコピー数異常と遺伝子発現が相関していることを示唆している。最後に我々は病理学組織学的特徴 (核異型度) とゲノムコピー数異常の相関について検討したところ、14q loss が核異型度の高度な腎淡明細胞癌に新たに付加されている異常であることを見出した。また、核異型度について low-grade 群と high-grade 群に分けて遺伝子発現を比較したところ、発現の低下している遺伝子は 14 番、9 番染色体上に存在する傾向があった。これらの知見は high-grade 群の腎淡明細胞癌において、14q loss がその部位に存在する遺伝子の発現低下に関与することを示唆している。

【結語】

腎淡明細胞癌において、ゲノムコピー数の異常は遺伝子発現に影響を与えていた。また核異型度が高度で予後不良な腎淡明細胞癌への進展に重要な遺伝子が、14 番染色体長腕に存在する可能性が示唆された。