

氏名	川口 真
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	第 6 2 7 号
認定課程名	防衛医科大学校医学教育部医学研究科
学位授与年月日	令和2年2月21日
論文題目	次世代シーケンシングを併用した HiCEP 法による腎細胞癌 遺伝子発現データベースの構築と腫瘍マーカーの探索
審査担当専門委員	(主査) 信州大学 教授 中山 淳 浜松医科大学 教授 梶村 春彦 順天堂大学 教授 鈴木 祐介

### 審査の結果の要旨

腎細胞癌の早期診断マーカーとして、尿中の aquaporin-1 (AQP-1)や perilipin2 (PLIN2) を測定する試み、あるいは血中の carbonic anhydrase 9 (CA9)を測定する試みがなされてきた。しかしながら、今日までに腎細胞癌の早期診断に有用な特異的腫瘍マーカーは確立されていない。一方、cDNA を網羅的に増幅することで mRNA の発現量を高い精度で解析する方法として、包括的高感度転写産物プロファイリング (high coverage gene expression profiling (HiCEP))法が開発された。しかしながら、HiCEP 法で同定された遺伝子の塩基配列を決定するためにはさらに煩雑な操作が必要となる。申請者は腎細胞癌に特異的な新規腫瘍マーカーを同定することを目的とし、HiCEP 法に次世代シーケンシング(next generation sequencing (NGS))を併用する方法(NGS-HiCEP)を開発、その解析結果をデータベース化した。

本研究によって、解析された腎細胞癌 6 症例の全てにおいて、癌部で非癌部よりも 5 倍以上発現している 12 個の HiCEP ピークが見出された。遺伝子解析の結果、12 個の内 8 個は既に腎細胞癌での高発現が報告されている遺伝子(CA9、stanniocalcin 2 (STC2)、ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 3 (ENPP3)、scavenger receptor class B member 1 (SCARB1)、egl-9 family hypoxia inducible factor 3 (EGLN3)、endothelial cell specific molecule 1 (ESM1)、angiopoietin 2 (ANGPT2)、semaphorin 5B (SEMA5B))であり、残りの 4 個は新規の遺伝子 (Genes A-D)として同定された。

次に、腎細胞癌 34 症例における癌部と非癌部を対象に、これら 12 個の遺伝子の発現量がリアルタイム PCR により解析され、これら全ての遺伝子は非癌部に比べて癌部において発現が増加していることが確認された。最後に TCGA (The Cancer Genome Atlas)に登録

されている淡明型腎細胞癌のデータベースを用いて 12 個の候補遺伝子と生命予後との関連が Kaplan-Meier 法にて解析された。その結果、SCARB1 並びに新規遺伝子(Gene C)の発現量と生存に有意差のあることが示された。

本研究は NGS-HiCEP を新たに開発し、この方法を用いて腎細胞癌の腫瘍部と非腫瘍部を比較解析することにより、腎細胞癌で発現が増加している遺伝子として新規 4 個の遺伝子を含む 12 個を同定した。これらは腎細胞癌の早期診断マーカーや予後予測マーカーとして臨床応用される可能性が期待できる。よって、本論文の学術的価値は高く博士（医学）として合格と判定した。