







学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・論	第 564 号	氏名	高橋美香
審査委員会委員		主査氏名	花田俊勝 
		副査氏名	白尾國昭 
		副査氏名	杉尾賢二 
<p>論文題目 Downregulation of WDR20 due to loss of 14q is involved in the malignant transformation of clear cell renal cell carcinoma (14q loss による WDR20 の発現低下は淡明細胞型腎細胞癌の悪性化に関与する)</p> <p>論文掲載雑誌名 Cancer Science</p> <p>論文要旨</p> <p>淡明細胞型腎細胞癌 clear cell renal cell carcinoma は、核異型度で分類すると低異型度と高異型度に分類され、高異型度群は予後不良である。申請者らの研究グループは高異型度群が低異型度群に比べ14番染色体長腕欠失 (14q loss) を有意に高頻度に認めることを報告してきたが、本論文では 14q loss 領域に存在し ccRCC の悪性化に関わる遺伝子について検討した。</p> <p>方法に関して、網羅的遺伝子解析として高異型度群 (n=16) と低異型度群 (n=16) の遺伝子発現を比較し高異型度群で発現低下する遺伝子を抽出した。The Cancer Genome Atlas (TCGA) dataset の ccRCC 499 例で抽出した遺伝子のコピー数、発現量のデータを用いて予後解析をした。細胞生物学的解析として、トランスポゾンを利用したベクターを用いてエレクトロポレーションでヒト腎癌細胞株 (786-O) に遺伝子導入し、強発現安定細胞株及びさらにその導入遺伝子を除去した安定細胞株を各々樹立した。これら細胞株の増殖能、浸潤能、遊走能、アポトーシスについて評価を行った。また、protein kinase B /AKT と ERK 経路の活性化状態を、AKT、ERK のリン酸化抗体を用いたウエスタンブロット法で検討した。</p> <p>結果に関して、33 例の発現解析の結果、14q loss の最小共通領域に存在する遺伝子の中で、発現量低下を 6 遺伝子で認めた。これら 6 遺伝子で 1 遺伝子を除く 5 遺伝子 (WDR20, BAG5, ZFYVE21, ZNF839, C14orf79) は高異型度群で低異型度群より有意に発現が低下することを見出した。更に TCGA dataset を用いてコピー数低下による発現低下と予後との相関性を解析したところ、5 遺伝子のうち WDR20 のみが有意に予後不良であった。次に、786-O (WDR20 低発現腎癌細胞株) に WDR20 を強制発現させたところ、増殖能の抑制及びアポトーシスの亢進を認めた。また、WDR20 の発現増加により AKT と ERK の活性化が抑制されたことから、これらのシグナル伝達経路の関与が示唆された。以上より、WDR20 は腎細胞癌の悪性化に関わる癌抑制遺伝子候補であると考えられた。</p> <p>本研究は、同研究グループの淡明細胞型腎細胞癌における 14 番染色体長腕欠失の先行研究をもとに、さらに遺伝子解析と細胞生物学的解析を行い、WDR20 が腎細胞癌の悪性化に関与することを明らかにした。さらにその分子機構について解析し、腎細胞癌における新たな治療標的としての可能性を示した。このため、審査委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 ①・論	第564号	氏名	高橋美香
審査委員会委員	主査氏名	花田 俊勝 	
	副査氏名	白尾 國昭 	
	副査氏名	杉尾 賢二 	
<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"> 1. 一般的には、RCCの予後は異型度に依存するか。またはstageに依存するか。どちらにより強く依存するのか。 2. 上記の観点から、RCCにおいて malignant transformation という概念が一般的に認められているか。 3. WDR20の分子機能について説明せよ。またWDドメインの機能は何か。 4. 生体内での機能についてはどうか。遺伝子ノックアウトマウスの表現型について報告はないか。 5. TCGA dataset analysisについて、症例の人種はどうなっているか。解析方法は研究者に任されているのか。各項目の分類方法、その設定値などの定義も研究者に任されているのか。 6. Clear cell renal cell carcinoma (ccRCCs) 32例の標本は、大分大学と大分赤十字病院からのものであるが、low grade と high grade の病理診断は一定の基準のもとで行われたのか。 7. 解析に用いられた細胞株 786-O と 769-P の WDR20 遺伝子は、homozygous deletion か hemizygous deletion か。 8. 細胞への transfection で用いた electroporation の効率ほどの程度か。 9. Supplementary materials and Methods の Vector construction and establishment of stable cell lines の説明で、7680_WDR20c12 となっているが、7860_WDR20c12 なのではないか。 10. ベクター名の pPB-Ubc-FLIG-N の FLIG とはどういう意味か。 11. PCMV-hyPBBase の導入でどのくらいの効率で挿入DNAを切り取ることができるか。 12. 細胞株の WDR20 が hemizygous deletion で、かつ一方のアレルに変異がないとすれば、suppressor gene としての機能はどう解釈するのか。 13. WDR20 のシグナル伝達経路において、crosstalk する因子で分かっている分子があるか。 14. DR20 導入細胞のリン酸化 AKT/ERK の Western blot 解析において、抑制の程度があまり強くないが、どのように解釈するのか。 15. WDR20 の安定発現細胞株について、WDR20 タンパク質のかかなりの過剰発現に見えるが、それによるアーテファクトがアポトーシス等の細胞反応に影響した可能性はないか。 16. 本研究で、WDR20 遺伝子が malignant transformation に involve していると結論しているが、むしろ WDR20 遺伝子は malignant progression に関与していると考えられるが、どのように解釈するのか。 17. WDR20 の downregulation が RCC の malignant transformation に関係しているという根拠は何か。 <p>これらの質疑に対して、申請者は概ね適切に回答した。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。