

## 論文内容の要旨

## Comprehensive analysis of somatic copy number alterations in clear cell renal cell carcinoma

(淡明細胞型腎細胞癌における体細胞コピー数変化の網羅的解析)

(露久保敬嗣, 石田和之, 刑部光正, 塩見叡, 加藤廉平, 高田亮, 小原航, 菅井有)

(Molecular Carcinogenesis, 2020 年掲載予定)

## I. 研究目的

遺伝子の異常はゲノム異常とエピゲノム異常に分類され、ゲノム異常の一つとしてコピー数多型 (copy number variation, CNV) が知られている。腫瘍における体細胞変異としての somatic copy number alteration (SCNA) は、諸臓器において発癌、進展の機序に関連していることが示されている。腎細胞癌における SCNA は、組織型や Fuhrman grade, 腫瘍径との関連が示されている。しかし、腎細胞癌における SCNA と予後との関連はいまだ不明な点が多く、特に転移・再発に対する SCNA の関わりは十分には解明されていない。

淡明細胞型腎細胞癌に関連する SCNA を網羅的に解析し、淡明細胞型腎細胞癌における SCNA が、臨床病理学的所見、転移・再発にどのように関連しているのかを分子病理学的に検討を行った。

## II. 研究対象ならび方法

2011～2017 年に岩手医科大学附属病院泌尿器科で腎摘除術を施行し、病理学的に淡明細胞型腎細胞癌と診断され、術前薬物療法を施行していない 59 例を対象とした。摘出された検体より採取した新鮮凍結検体 (腫瘍部) を SCNA 解析に用い、また、ホルマリン固定後の検体より新鮮凍結検体採取部位の断面を含む病理組織標本を作製した。通常の過程を経て作製されたヘマトキシリン・エオジン染色および線維染色 (エラスティカ・マッソン染色) により、2 名以上の病理医が腎細胞癌取扱い規約 (第 4 版), TNM 分類 (第 8 版) に基づき病理診断を行った。凍結標本より DNA を抽出し十分な DNA 量が確認できたサンプルについて Affymetrix 社の Cytoscan HD array, GeneChip® Scanner 3,000 7G system を用いて SCNA 解析を行った。コピー数の変化は通常 2 コピーであることに對し, gain を 3 コピー以上, loss of heterozygosity, LOH を 1 コピー以下, copy neutral LOH をコピー数に変化のないヘテロ接合性の消失, gain mosaic を不完全なコピー数増加, LOH mosaic を不完全なコピー数減少と判定した。さらに, SCNA が生じている染色体のすべての遺伝子座について, gain pattern, LOH pattern, copy neutral LOH pattern, mosaic pattern, mixed pattern の 5 つの SCNA pattern に分類した。全遺伝子座にそれぞれ生じている SCNA pattern に基づいて階層的層別化解析を行った。得ら

れた各 subgroup と臨床病理学的所見，異時性転移，無再発生存期間，全生存期間との関連について検討した。また，各 subgroup を特徴づけている SCNA pattern を明らかにした。SNA pattern の個別化解析を行い，subgroup を特徴づけている SCNA pattern が淡明細胞型腎細胞癌の予後予測因子となりうるかについて検討を行った。統計解析は，Chi-square test, Fisher's exact test, Mann-Whitney U test, Log-rank test, Cox proportional hazards model, Bonferroni correction を用いて行った。上記の検討を first cohort として 30 例を対象に行い，腎腫瘍の摘除術が施行されてから画像診断あるいは病理組織診断で再発が確認されるまでの間を無再発生存期間とし，予後の経過観察期間（中間値）は 52 ヶ月であった。同様の検討を second cohort (validation cohort) として 29 例を対象に行った。

### III. 研究結果

1. First cohort において，淡明細胞型腎細胞癌は SCNA pattern に基づく階層的層別化解析により 2 つの subgroup に分類された。
2. Subgroup 2 は subgroup 1 よりも異時性転移の頻度が高く予後が不良であった。
3. 単変量および多変量 Cox proportional hazards model において，subgroup のみが異時性転移を予測する独立した因子であった。
4. Subgroup 間における SCNA pattern について検討を行ったところ，3p24.3-mixed pattern の有無が subgroup 分類を特徴づけており，3p24.3-mixed pattern の SCNA の内訳はすべて LOH あるいは LOH mosaic であった。
5. 3p24.3-mixed pattern 陽性群は，陰性群と比較して異時性転移の割合が低く，単変量，多変量 Cox proportional hazards model においても 3p24.3-mixed pattern は予後良好群を予測する因子であった。
6. Subgroup 分類，3p24.3-mixed pattern の有無は，全生存期間には影響していなかった。
7. 上記と同様の検討を second cohort において施行したが，同様の結果が得られた。

### IV. 結 語

淡明細胞型腎細胞癌における 3p24.3-mixed pattern 陽性群は，陰性群と比較して異時性転移の割合が低く，予後良好であった。3p24.3-mixed pattern の SCNA の内訳はすべて LOH あるいは LOH mosaic であり，3p24.3 に位置する oncogene が欠失することで予後に差異が生じたと思われる。したがって，3p24.3-mixed pattern は淡明細胞型腎細胞癌において新規マーカーであることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 前門戸 任 先生 (内科学講座呼吸器・アレルギー・膠原病内科分野)  
副査 講師 刑部 光正 先生 (病理診断学講座)  
副査 講師 加藤 陽一郎 先生 (泌尿器科学講座)

### Comprehensive analysis of somatic copy number alterations in clear cell renal cell carcinoma (淡明細胞型腎細胞癌における体細胞コピー数変化の網羅的解析) (Molecular Carcinogenesis (in press))

淡明細胞型腎細胞癌に関連する SCNA を網羅的に解析し、淡明細胞型腎細胞癌における SCNA が臨床病理学的所見、転移・再発にどのように関連しているのかを分子病理学的に検討を行った。First cohort 30 症例において、淡明細胞型腎細胞癌は SCNA pattern に基づく階層的層別化解析により 2 つの subgroup に分類され、Subgroup 2 は subgroup 1 よりも異時性転移の頻度が高く予後が不良であった。単変量および多変量 Cox proportional hazards model において、subgroup のみが異時性転移を予測する独立した因子であった。Subgroup 間における SCNA pattern について検討を行ったところ、3p24.3-mixed pattern の有無が subgroup 分類を特徴づけており、mixed pattern の SCNA の内訳はすべて LOH あるいは LOH mosaic であった。3p24.3-mixed pattern 陽性群は、陰性群と比較して異時性転移の割合が低く、単変量、多変量 Cox proportional hazards model においても 3p24.3-mixed pattern は予後良好群を予測する因子であった。Subgroup 分類、3p24.3-mixed pattern の有無は、全生存期間には影響していなかった。上記と同様の検討を second cohort において施行したが、同様の結果が得られた。淡明細胞型腎細胞癌における 3p24.3-mixed pattern 陽性群は、陰性群と比較して異時性転移の割合が低く、予後良好であった。3p24.3-mixed pattern の SCNA の内訳はすべて LOH あるいは LOH mosaic であり、3p24.3 に位置する oncogene が欠失することで予後に差異が生じたと考えられる。したがって、3p24.3-mixed pattern は淡明細胞型腎細胞癌において新規マーカーであることが示唆された。

### 試験・試問の結果の要旨

SCNA の解析方法およびファーストコホートとセカンドコホート集団の抽出方法、また、LOH モザイクの意味することについて試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

### 参考論文

- 1) Analysis of expression patterns of microRNAs that are closely associated with renal carcinogenesis (腎発癌に密接に関連する microRNA の発現パターンの分析) (塩見叡, 他 7 名と共著)  
Frontiers in Oncology, 431 巻, 9 号
- 2) 透析腎から発生した淡明細胞乳頭状腎細胞癌の 1 例 (塩見叡, 他 9 名と共著)  
診断病理, 36 巻, 2 号
- 3) 緊急腎動脈塞栓術により救命しえた巨大腎動脈瘤腎盂内破裂 (菊池大地, 他 5 名と共著)  
臨床泌尿器科, 73 巻, 10 号