

氏名(本籍)	こ じま たか ひろ (茨城県)		
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 5208 号		
学位授与年月日	平成 21 年 11 月 30 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	<b>Decreased expression of CXXC4 promotes a malignant phenotype in renal cell carcinoma by activating Wnt signaling</b> (CXXC4 の発現低下は Wnt シグナルの活性を介して腎細胞癌における悪性形質の獲得に関与する)		
主 査	筑波大学教授	医学博士	長田道夫
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	楊 景堯
副 査	筑波大学准教授	博士 (医学)	沖 明典
副 査	筑波大学講師	博士 (医学)	宮永直人

## 論 文 の 内 容 の 要 旨

### (目的)

腎細胞癌の発生初期には、von Hippel-Lindau (VHL) tumor suppressor gene の機能喪失により hypoxia-inducible factor (HIF) が細胞内に蓄積し、その下流遺伝子である VEGF、PDGF、TGF  $\alpha$  などの発現異常が重要とされる。本研究では高密度 single nucleotide polymorphism アレイを用いた高解像度のゲノムコピー数解析から、腎細胞癌での新規癌関連遺伝子の同定を試み、腎細胞癌の癌化と悪性化との関連を検討した。

### (対象と方法)

淡明型腎細胞癌摘出組織と非癌部各 23 検体の凍結標本から DNA を抽出し GeneChip Mapping 50K *Hind*240 array を用いてそのシグナル値の癌部、非癌部の比較により DNA コピー数を解析した。遺伝子発現量の解析には 92 例の腎細胞癌凍結組織の定量 RT-PCR を、蛋白発現解析には同ホルマリン固定組織による免疫染色を用いた。同定した遺伝子の機能解析には、siRNA 法による腎癌細胞株 (SKRC-59) 発現 knockdown 系での、遺伝子発現の変化、細胞増殖、アポトーシスについて解析した。

### (結果)

高頻度の DNA コピー数異常は 3p の欠失 (100%)、5q の増幅 (87%) で、他は 4q (26%)、8p (30%)、9 (26%)、14q (48%) の欠失と 7 (43%)、12 (52%)、20 (31%) の増幅であった。10q と 13q の欠失は転移症例に有意に多かった。有転移例において 1Mb 以下の領域のホモ欠失が 4q24、9p21.3、10q25.2 にあり、この領域に腎癌の進展に関わる遺伝子が存在するかを調べた。候補遺伝子として、4q24 ホモ欠失領域において Wnt シグナルの negative regulator である CXXCfinger 4 (CXXC4) に注目した結果、CXXC4 の発現低下は腎細胞癌の悪性度や病期の進行と強く相関していた。Wnt シグナル活性の指標である  $\beta$ -catenin の細胞内局在と CXXC4 の発現との関連では、CXXC4 の発現低下例で  $\beta$ -catenin の細胞質内異常集積が高頻度であった。腎癌細胞株で CXXC4 を knockdown すると、 $\beta$ -catenin の局在は細胞膜から核に移行し Wnt シグナルの下流遺伝子の発現が変化するとともに細胞増殖は亢進し、抗癌剤によるアポトーシスは減少した。

### (考察)

*CXXC4* がコードする inhibition of the Dvl and Axin complex (Idax) は dishvelled (Dvl) の PDZ ドメインに結合し、Axin-Dvl の結合を阻害することにより Wnt シグナルを抑制していると報告されている。今回、早期腎癌では Idax の発現が高く、進行期では低かったこと、 $\beta$ -catenin の細胞内局在が異なったことから、腎癌においては病期により Wnt シグナルの活性化の状態が異なるものと考えられる。腎癌の Wnt シグナルは潜在的に活性化されていることを示唆する報告もあり、早期腎癌では Idax が Wnt シグナルを抑制し、悪性度の上昇に伴いその発現が低下し、Wnt シグナルの活性化が顕在化し、進展に関わる可能性が示唆された。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

*CXXC4* の発現低下を介した Wnt シグナルの活性化が腎細胞癌の進行や悪性化に関与することを明らかにした。

本研究は腎細胞癌における *CXXC4* の機能を解析した最初の研究であり、腎細胞癌に対する新たな治療戦略の可能性を見いだした学術的価値の高い論文である。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。