

# Transcriptome 解析により胃癌肝転移関連遺伝子として 検出した G protein $\gamma 4$ の発現および機能解析

名古屋大学医学部附属病院

消化器外科二 助教 神田 光郎

名古屋大学大学院

消化器外科学 教授 小寺 泰弘

大学院生 清水 大

名古屋大学医学部附属病院

消化器外科二 助教 林 真路

## 【背景と目的】

胃癌の肝転移は極めて予後不良であり、その治療方略の確立のためには新規分子標的治療薬の開発および悪性度診断マーカーが不可欠である。原発巣より遊離した癌細胞が遊走・生着・増殖して肝転移巣を形成するまでには多段階の過程が必要であり、遠隔転移の様式に応じた分子生物学的背景を解明していくことが効果的アプローチとなると考えた。我々は、肝転移形成に特異的に関与する新規標的分子を同定する目的で、肝転移症例を対象とした Transcriptome 解析を行い、胃組織および肝転移巣の間で網羅的遺伝子発現比較を行った。肝転移を有する患者の胃癌組織中に有意な発現亢進を認める遺伝子群の中から細胞外マトリックス蛋白の一つである G protein  $\gamma 4$  (GNG4) を検出した。本研究では、GNG4 遺伝子の詳細な発現および機能を解析することを目的とした。

## 【方法】

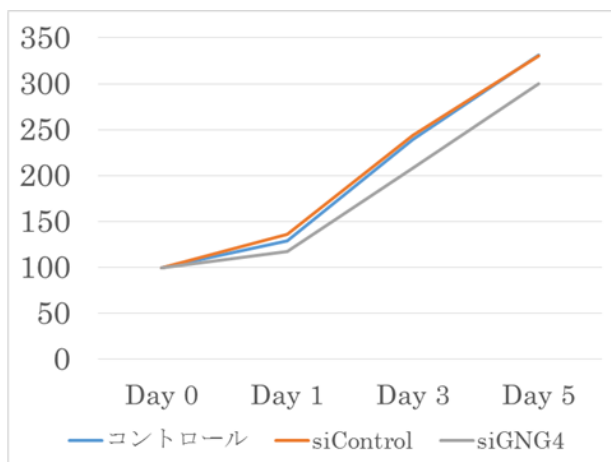
in vitro 実験；胃癌細胞株における GNG4 の発現度解析を経て、siRNA 法による GNG4 のノックダウン実験を行った。ノックダウン前後の、増殖能、浸潤能、遊走能の変化を評価した。  
in vivo 実験；胃癌細胞株のマウス門脈内注入によって肝転移モデルを作成した。  
GNG4 の発現解析；多検体の胃癌組織における GNG4 の発現解析を、主に定量的 real time PCR 法を用いて行い、再発形式、予後、臨床病理学的因子との相関性を調べた。

## 【結果】

肝転移を有する胃癌症例 4 例から得られた組織を対象とした。HiSeq (Illumina 社) を用いて発現プロファイリングを行い、胃原発巣癌部、胃正常部、肝転移巣組織の 3 群間での網羅的遺伝子発現解析を行った。これにより GNG4 が胃非癌部に対して約 30 倍の発現度で有意に胃癌原発巣で発現亢進していることを見出した (下表)。胃原発巣と肝転移巣の間に発現較差を認めないため、同分子は胃癌細胞の転移ポテンシャルに関わるものと推察された。

gene	胃非癌部	胃原発巣	肝転移巣	胃原発巣		肝転移巣	
				胃非癌部		胃原発巣	
	FPKM	FPKM	FPKM	log2	p_value	log2	p_value
GNG4	0.51009	14.5856	17.8901	4.83765	0.00005	0.294612	0.7296

胃癌細胞株での発現解析では、10 種中 7 種の胃癌細胞株で、非腫瘍性上皮由来細胞株に比して高度に GNG4 発現度が上昇していた。GNG4 高発現細胞株を用いて、siRNA による GNG4 ノックダウンを行ったところ、胃癌細胞株の増殖能 (下図)、遊走能および浸潤能が抑制された。現在、NOD-SCID マウスでの肝転移モデルを確立することに成功し、GNG4 の抑制が肝転移形成能にどのような影響をあたえるかを検証中である。



胃癌切除標本から得た臨床検体 200 例における GNG4 発現解析では、GNG4 高発現群は有意に同時性肝転移が多く、予後不良であった。また、胃癌原発巣における GNG4 高発現群では、治癒切除術後の肝転移再発の頻度が有意に高かった。

### 【まとめ】

本研究の成果により、GNG4 が胃癌肝転移において重要な役割を有することが示唆された。今後、同分子を標的とした診断・治療法の開発が期待される。