

論 文 内 容 要 旨

題目 *Claudin-6* is a single prognostic marker and functions as a tumor-promoting gene in a subgroup of intestinal type gastric cancer

(*Claudin-6* は、腸型胃がんの亜群において独立した予後因子であるとともにごん促進遺伝子として機能する)

著者 Tomohiro Kohmoto, Kiyoshi Masuda, Katsutoshi Shoda, Rizu Takahashi, Sae Ujiro, Shoichiro Tange, Daisuke Ichikawa, Eigo Otsuji, Issei Imoto

令和元年発行 Gastric Cancer に掲載予定

内容要旨

世界でもがん罹患ならびにごん死の原因の上位にある胃がんでは、現在治療の分子標的となる遺伝子が *ERBB2* と *VEGFR2* のみであり、コンパニオン診断の対象となるバイオマーカーもほとんど明らかになっていないことから、新たな治療標的や予後予測マーカーの同定が喫緊の課題である。大規模な胃がんのオミクス解析から分子プロファイルによる亜型分類が行われているが、有効な分子標的の同定までには至らず、新たな探索アプローチが必要と考えられている。

本論文では胃がん組織の遺伝子発現プロファイルに着目し、新規胃がん促進遺伝子候補の同定とそのがん促進作用の分子機序の検討を試みた。

公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) の遺伝子発現データと付随した臨床病理学的情報を用い、がん特異的に発現上昇し、かつがん組織での発現上昇が全生存率の低下に関与する遺伝子を探索した。得られた候補遺伝子から、細胞膜に発現し薬剤の分子標的となり得るものを絞り込むことで、tight junction の構成因子であるクローディンファミリー分子に属するクローディン6 (*CLDN6*) を同定した。

CLDN6 は、発生上胎生期に発現し成人組織ではほとんど発現していない。これまで乳がん、肺がん、卵巣がんなどで *CLDN6* の高発現が確認されてきたが、その機能は不明であった。TCGA データでは、*CLDN6* mRNA は胃がんの一部のみで高発現が認められ、特に腸型胃がんにごん高発現症例が多く、びまん性胃がんにごん比べて予後の良い腸型胃がんの中でも *CLDN6* mRNA 高発現群は予後不良であることが明らかになった。同様の所見は、他の遺伝子発現データベース、Gene

様式(8)

Expression Omnibus でも再現され、自験例を用いた免疫染色により蛋白レベルでも類似の結果が確認された。

CLDN6 高発現胃癌細胞株 (AGS, NUGC3, MKN7) を対象に siRNA を用いて内因性 CLDN6 をノックダウンすることで、がん細胞の増殖能、遊走能、浸潤能が低下することを見出した。蛋白発現からそれらを制御する p21、p27、SKP2、CDH1、SNAI1 などの分子の発現変動を認めた、細胞周期解析では G1 期から S 期への移行が阻害されることを確認した。さらに、CLDN6 ノックダウン細胞での網羅的遺伝子発現解析から、CLDN6 が何らかの機序で転写共役因子である YAP1 を転写レベルで制御することにより、その標的の下流遺伝子群の発現を介してがん促進に働く可能性を初めて見出した。

本研究は、公共データベースを用いた遺伝子発現解析による胃癌促進遺伝子候補 *CLDN6* の同定から、自験例におけるデータ再現性の確認、細胞株を用いた機能解析による CLDN6 のがん促進機序の解明までを行い、CLDN6 が単一での胃癌の予後予測マーカーになりうるだけでなく、有力な治療の分子標的になりうる可能性を示した。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1439 号	氏名	河本 知大
審査委員	主査 島田 光生 副査 高山 哲治 副査 常山 幸一		

題目 *Claudin-6* is a single prognostic marker and functions as a tumor-promoting gene in a subgroup of intestinal type gastric cancer (*Claudin-6* は、腸型胃がんの亜群において独立した予後因子であるとともにごん促進遺伝子として機能する)

著者 Tomohiro Kohmoto, Kiyoshi Masuda, Katsutoshi Shoda, Rizu Takahashi, Sae Ujiro, Shoichiro Tange, Daisuke Ichikawa, Eigo Otsuji, Issei Imoto
 令和元年発行 Gastric Cancer に掲載予定
 (主任教授 有澤 孝吉)

要旨 がん罹患ならびにごん死の原因の上位にある胃がんでは、現在治療の分子標的となる遺伝子が *ERBB2* と *VEGFR2* のみであり、コンパニオン診断の対象となるバイオマーカーもほとんどなく、新たな治療標的や予後予測マーカーの同定が喫緊の課題である。大規模な胃がんのオミクス解析から分子プロファイルによる亜型分類が行われているが、有効な分子標的の同定までには至らず、新たな探索アプローチが必要と考えられている。

申請者らは、胃がん組織の遺伝子発現プロファイルに着目し、新規胃がん促進遺伝子候補の同定とそのがん促進作用の分子機序の検討を行った。

1) 公共データベースである The Cancer Genome Atlas (TCGA) の遺伝子発現データと付随した臨床病理学的情報を用い、がん特異的に発現上昇し、かつがん組織での発現上昇が全生存率の低下に関与する遺伝子を探索した。得られた候補遺伝子から、細胞膜に発現し薬剤の分子標的となり得るものを絞り込むことで、tight junction の構成因子であるクローディンファミリー分子に

属する *Claudin-6* (*CLDN6*) が同定された。

- 2) *CLDN6* は、発生上胎生期に発現し成人組織ではほとんど発現していない。TCGA データでは *CLDN6* mRNA は胃がんの一部でのみ高発現が認められ、特に腸型胃がんを高発現症例が多く、びまん性胃がんに比べて予後の良い腸型胃がんの中でも *CLDN6* mRNA 高発現群は予後不良であることが明らかになった。同様の所見は、他の遺伝子発現データベース、Gene Expression Omnibus でも再現され、自験例を用いた免疫染色により蛋白レベルでも類似の結果が確認された。
- 3) *CLDN6* 高発現胃がん細胞株(AGS, NUGC3, MKN7)を用い、siRNA で内因性 *CLDN6* をノックダウンすると、がん細胞の増殖能、遊走能、浸潤能が低下した。蛋白発現からそれらを制御する p21、p27、SKP2、CDH1、SNAI1 などの発現変動を認め、細胞周期解析では G1 期から S 期への移行が阻害された。さらに、*CLDN6* ノックダウン細胞での網羅的遺伝子発現解析から、*CLDN6* が転写共役因子である YAP1 を転写レベルで制御し、標的の下流遺伝子群の発現を介してがん促進的に働くことが示唆された。

本研究は、公共データベースを用いた遺伝子発現解析による胃がん促進遺伝子候補 *CLDN6* の同定、自験例におけるデータ再現性の確認、細胞株を用いた *CLDN6* のがん促進機序の検討から、*CLDN6* が単一での胃がんの予後予測マーカーになるだけでなく治療標的になる可能性を明らかにした。本成果は胃癌の進展機序解明と治療法開発に有益な示唆を与えており、その臨床的意義は大きく学位授与に値すると判定した。