

主論文の要旨

***FAM46C* Serves as a Predictor of Hepatic Recurrence
in Patients with Resectable Gastric Cancer**

〔 *FAM46C* の胃癌肝転移再発予測因子としての有用性の検討 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 消化器外科学分野

(指導：小寺 泰弘 教授)

田中 晴祥

【背景】

進行再発胃癌は予後不良であるが、その転移再発形式のなかでも肝転移は特に制御困難とされている。胃癌治療ガイドライン（2014年 第4版）で、はじめて胃癌肝転移の外科的切除に関する方向性が示されたように、肝転移の克服は胃癌診療において重要な課題となっている。原発巣から遊離した癌細胞が生着・増殖して転移巣を形成するには多段階の過程が必要であり、転移経路ごとの多様な分子生物学的背景について様々な議論がなされてきた。近年、次世代シーケンサーやマイクロアレイといった網羅的な解析手法により転移関連分子が報告されるようになった。胃癌肝転移の分子生物学的病態を理解することと、鋭敏なバイオマーカーを開発することを本研究の目的とし、網羅的解析から同定した FAM46C 遺伝子（Family with sequence similarity 46, member C）の発現とその調節機序、臨床的意義について検討した。

【対象と方法】

肝に限局した遠隔転移を有する胃癌症例から得た胃癌原発巣組織、非癌部組織、および肝転移巣組織を対象として RNA sequencing 法による網羅的発現解析を行い、候補遺伝子を抽出した。11種の胃癌細胞株と非腫瘍性腸管上皮細胞株（FHs74）を対象に、定量的 RT-PCR 法による mRNA 発現量、bisulfite sequencing 法によるプロモーター領域の DNA 異常メチル化、DNA コピー数異常、および direct sequencing 法による変異の有無について検討した。胃癌根治的切除症例 129 例から得た癌部および非癌部組織を対象に、mRNA 発現量を定量的 RT-PCR 法により測定し、DNA コピー数異常、臨床病理学的因子および予後との相関性について検討した。

【結果】

胃癌原発巣組織で非癌部組織より有意に発現が低下している 21 遺伝子を抽出した (Table 1)。この中から、消化器癌において既報のない FAM46C を候補分子として選定した。11 種中 6 種の胃癌細胞株で FHs74 と比べて FAM46C の明瞭な発現低下を認めた (Fig. 1a)。6 種の胃癌細胞株で FAM46C のコピー数異常がみられ、5 種で FAM46C exon 内に点変異を認めた (Fig. 1b)。一方で、いずれの細胞株においても FAM46C プロモーター領域の DNA メチル化は検出されなかった (Fig. 1c)。臨床検体では、129 例中 117 例 (91%) で癌部の FAM46C 発現量は非癌部と比べて低下しており (Fig. 2)、コピー数異常を有する症例は、無い症例に比べて mRNA 発現量が低下していた (Fig. 3)。癌部 FAM46C mRNA 発現量の中央値をもって高発現群と低発現群の 2 群に分けて解析すると、FAM46C 低発現群では腫瘍径が 50mm を超える頻度が有意に高かった ($P = 0.014$, Table2)。FAM46C 低発現群では、無再発生存期間および全生存期間の有意な短縮を認めた (Fig. 4a および 4b)。さらに、FAM46C 低発現は術後無再発期間を規定する独立した予後不良因子であった (ハザード比 4.61、95% 信頼区間 2.15–9.89、 $P < 0.001$, Table 3)。UICC stage 別のサブグループ解析では、stage II 症例の FAM46C 高発現群には術後再発を認めなかった (Fig. 4c)。また、術

後累積肝再発率は FAM46C 低発現群で有意に高く、肝再発症例の全例が低発現群に属していた (Fig. 4d)。

【考察】

本研究では、同時性肝転移を有する患者から得た組織を対象にした transcriptome 解析により FAM46C を同定し、その胃癌組織中の発現低下が治癒切除後再発を予測する有用なバイオマーカーとなる可能性が示された。

近年、アジア諸国における *Helicobacter pylori* 感染率の減少と食道胃接合部腺癌の増加により、胃癌肝転移の診療機会が増加している一方で、その治療開発が進んでいないのが現状である。今回我々は網羅的遺伝子解析技術を応用し、胃癌原発巣の転移能を反映しうる新規バイオマーカーを探索する目的で本研究手法を着想した。

まず、同時性肝転移を有する胃癌症例の原発巣と非癌部胃粘膜との間で発現格差を示す候補遺伝子を検索し、21 の遺伝子を抽出した。その中から、消化器癌で既報のない FAM46C について発現調節機序および臨床的意義について検討することとした。

FAM46C は 1 番染色体短腕 12 に存在する FAM46 family のメンバーの 1 つである。生体内での生理的機能として、シグナル伝達系に關与する翻訳調節因子として働いていると報告されているものの、その詳細な機能については現在のところ十分に解明されていない。多発性骨髄腫患者において FAM46C の点変異とこれに合併するコピー数異常を認め、これらは予後不良因子であると報告されている。

胃癌細胞株において、FAM46C プロモーター領域の異常メチル化は同定されなかった。点変異やコピー数異常は一定の頻度で FAM46C 発現低下細胞株に認められ、発現調節因子である可能性が示唆された。同様に、臨床検体においてもコピー数異常と FAM46C 発現低下の関連性が示された。これに関しては、遺伝子再編成の關与が想定される。すなわち、点変異は染色体内で遺伝子が複製される際に起こり、これらが直列配列となり転写活性を低下させ発現低下を導くというものである。胃癌での FAM46C についても、同様な発現調節機序が働いている可能性があるものと考えられた。

胃癌組織を対象として FAM46C mRNA 発現量と予後および臨床病理学的因子との相関を検討した。原発巣組織中の FAM46C 発現低下は、腫瘍径とは相関を示したものの、UICC stage、静脈浸潤などの一般的に予後や肝転移に關連するとされる臨床病理学的指標とは有意な相関を示さなかった。その上で、FAM46C の低発現群は高発現群に比べて有意に予後不良であり、なかでも Stage II においては低発現群でのみ再発を認めた。また、治癒切除術後に肝転移再発をきたした症例は、全例が FAM46C 低発現群であった。これらの知見から、FAM46C 発現は、既存の臨床病理学的な予後因子とは独立した、患者予後および肝再発リスクを階層化する新たなツールとなり得るものと考えられた。その具体的な臨床応用方法として、切除標本における FAM46C 発現量を測定することで、胃癌術後経過観察における画像診断の頻度やその標的臓器、および周術期補助化学療法の決定の一助となることが期待される。

【結論】

FAM46C は胃癌根治的切除術後における予後、特に肝再発を予測するバイオマーカーとして有望であると考えられた。