

## 論文内容の要旨

論文提出者氏名 井上 博之

### 論文題目

Functions and Clinical Significance of CACNA2D1 in Gastric Cancer

### 論文内容の要旨

電位依存性カルシウムチャネルは、複数のサブユニットの複合体として形成されている。中でも  $\alpha 2\delta$  サブユニットをコードする遺伝子の一つである CACNA2D1 はこれまでに卵巣癌や肺癌で *oncogene* として報告されているものの、その機能は未だに不明な点が多い。今回胃癌における CACNA2D1 の機能と役割を解析し、CACNA2D1 の阻害薬であるアムロジピンの胃癌治療における有効性を評価することを目的とした。

ヒト胃癌細胞株に対し、CACNA2D1 の siRNA を用いて CACNA2D1 を knockdown し、細胞増殖、細胞周期、アポトーシス、遊走能、浸潤能の変化を評価した。また CACNA2D1-HaloTag ベクターを導入し、CACNA2D1 を overexpression させて機能の変化を確認した。マイクロアレイ解析により CACNA2D1 を knockdown した胃癌細胞における遺伝子発現の変化を分析した。さらに根治的胃切除術を施行された胃癌患者 196 症例に対し、免疫組織化学染色 (IHC) を用いて CACNA2D1 の発現を評価し、その発現と臨床病理学的背景因子および予後との関連を解析した。加えて、CACNA2D1 の阻害薬であるアムロジピンの腫瘍に対する効果を *in vitro* と *in vivo* で検討した。

胃癌細胞株における CACNA2D1 の発現を評価し、knockdown 実験には発現の高い MKN7 と HGC27 を使用し、overexpression 実験には発現の低い MKN45 と NUGC4 を用いた。CACNA2D1 の knockdown 実験では、細胞増殖、遊走能、浸潤能が抑制され、アポトーシスが誘導された。また、CACNA2D1 を overexpression すると、細胞増殖、遊走能、浸潤能が亢進した。マイクロアレイ解析の結果、CACNA2D1 を knockdown した細胞では、p53、BAX、caspase 3 を介したアポトーシスシグナル伝達経路が亢進していることが明らかとなった。アポトーシスシグナル伝達経路に関連する遺伝子発現を MKN7 と HGC27 において PCR と Western blotting 法で検証し、マイクロアレイ解析と同様の結果を得た。IHC では単変量解析の結果、CACNA2D1 高発現群が有意に予後不良(5 年生存率 高発現群 77.7% vs 低発現群 91.8%,  $p=0.009$ )であり、多変量解析においても、CACNA2D1 の発現高値が独立した予後不良因子として同定された ( $p<0.001$ , 95% confidence interval 2.021-11.234, hazard ratio 4.694)。公開データベースを用いて CACNA2D1 の発現と予後について解析したところ、本研究と同様に CACNA2D1 高発現群は有意に予後不良であった。さらに、CACNA2D1 の阻害薬であるアムロジピンの効果を検討したところ、MKN7 と HGC27 において、アムロジピンはシスプラチンへの上乗せ効果を示した。ヌードマウスに HGC27 を皮下注射腫瘍モデルを作成してアムロジピンの効果を検討すると、アムロジピン

投与群で有意な腫瘍縮小効果を得られた。

本研究は、胃癌において CACNA2D1 がアポトーシスシグナル伝達経路を介して腫瘍増殖を制御していることを示した。CACNA2D1 が癌増殖のバイオマーカーとして、また胃癌の治療標的としての可能性があることが示唆された。