

平成 30 年 6 月 14 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10085

研究課題名(和文) HDAC阻害剤MS-275によるFBXW7発現誘導の胃癌腹膜播種治療への展開

研究課題名(英文) Potential of tumore suppressor FBXW7 as one of the therapeutic targets

研究代表者

横堀 武彦 (Yokobori, Takehiko)

群馬大学・未来先端研究機構・講師

研究者番号：60420098

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：以前の研究で腫瘍抑制因子FBXW7 mRNA発現は非癌部と比較して癌部で抑制されており、低発現症例は有意に癌が進行しており、予後不良であることを報告している。今回の検討で胃癌におけるFBXW7タンパク発現を免疫染色法で評価し、その発現意義を検証すると共に、癌細胞株を用いてFBXW7の機能解析実験をin vitroで施行した。その結果、FBXW7低発現症例は予後不良の傾向があった。FBXW7高発現癌細胞は抗がん剤感受性、放射線感受性が亢進した。さらにFBXW7変異癌細胞株で高い薬効を示すことが報告されているMS-275をがん細胞株に添加することでFBXW7発現が誘導されることを確認した。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that the expression levels of FBXW7 in gastric cancer tissues were lower than those in non-cancerous tissues. Moreover, the gastric cancer patients with low FBXW7 expression have aggressive phenotypes of gastric cancer and poor prognosis compared to the high expression group. In this study we evaluated the FBXW7 protein expression using IHC. As a result, the low FBXW7 group had tendency of poor prognosis compared to the high expression group. Moreover, the FBXW7 induction by HDAC inhibitor MS-275 was validated in cancer cell lines. The cancer cell lines expressing highly FBXW7 were more sensitive to the anticancer drugs and radiation than control cells. The therapeutic strategy to induce the FBXW7 expression by HDAC inhibitors might be a good for refractory gastric cancer patients.

研究分野：消化器癌

キーワード：FBXW7 消化器癌

## 1. 研究開始当初の背景

胃癌は日本人の癌死原因の上位を占めており進行再発症例、特に腹膜播種を発症した際の予後は不良である。再発様式としては腹膜播種再発の頻度が高く、**腹膜播種薬に対する効果的な治療薬の開発が望まれており**、パクリタキセル腹腔内投与など様々な試みがなされ有望な成果を上げている。しかし治療抵抗性の症例の予後は依然として厳しくさらなる治療標的分子、治療法が開発が望まれている。

我々は以前、**胃癌における腫瘍抑制因子 FBXW7 喪失は腹膜播種、リンパ節転移の進行、予後不良と有意に関連**することを報告した

(T. Yokobori and H. Kuwano et al., Cancer Res 2009)。FBXW7 は腫瘍細胞の増殖に重要な MYC, MCL1, Notch, cyclinE, mTOR などの腫瘍性タンパクをユビキチン化しユビキチンプロテオソーム系で分解するユビキチンリガーゼの1種である(図1:FBXW7の機能)。われわれの検討では胃癌手術症例 100 症例中で手術時に**腹膜播種を認めた 17 症例中 16 症例(94%)は癌部 FBXW7 発現が非癌部よりも低発現**であったことから腹膜播種の成立に FBXW7 が強く関与することが示唆された。FBXW7 発現の制御に関しては DNA コピー数による発現制御、変異による機能喪失、p53 による転写調節などのメカニズムが報告されている。しかし FBXW7 は一方の相同染色体の喪失によって腫瘍抑制因子としての機能を十分に果たすことができない

haploinsufficient tumor suppressor としても知られており(Mao et al., Nature 2004)、**HDAC 阻害剤や脱メチル化剤などで喪失していない染色体上の FBXW7 発現、p53 発現を誘導する治療戦略は腹膜播種を伴う難治性胃癌の治療として有望と期待**される。実際に、FBXW7 発現癌細胞は MCL1 分解を介してタキサン系抗癌剤(パクリタキセル)の感受性が改善することも報告されている。また癌細胞株

と抗がん剤の関係を網羅的にしらべた

Garnett らの報告では FBXW7 喪失癌細胞株は HDAC 阻害剤 MS-275 の感受性が高いことが報告されている(Garnett et al., Nature 2012)。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は

これまで RNA レベルで検証されていた癌切除検体における FBXW7 発現の意義をタンパクレベルで検証すること、

HDAC 阻害剤における FBXW7 発現変動をタンパクレベルで検証すること、である。

## 3. 研究の方法

FBXW7 タンパク発現の意義に関する検討では、胃癌組織に限定せずさまざまな固形癌手術検体での FBXW7 発現を免疫染色法で評価することとした。本研究では胃癌 (n=101)、膵臓癌 (n=122)、胆管癌 (n=100)にて FBXW7 タンパク発現を検討した。

がん細胞株に HDAC 阻害剤 MS-275 を添加し FBXW7 タンパク発現変動を検証する。

## 4. 研究成果

-1. 非癌部と比較して癌部 FBXW7 タンパク発現は抑制されていた。この結果は mRNA の解析データと一致していた。

-2. FBXW7 低発現の癌症例は高発現症例と比較して予後不良であった。

図1. 胃癌における FBXW7 と予後の関係 (Under preparation)

FBXW7 高発現胃癌は予後良好であり、mRNA 発現データと一致していた。

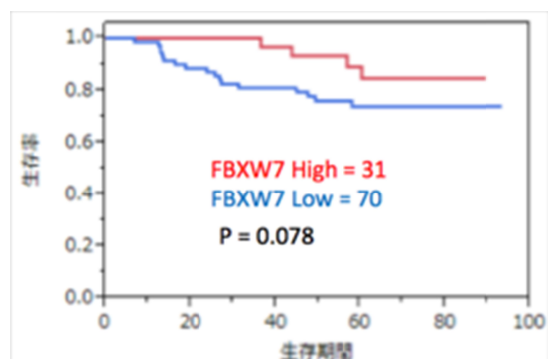
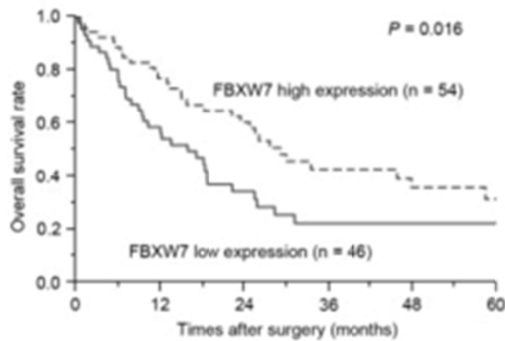
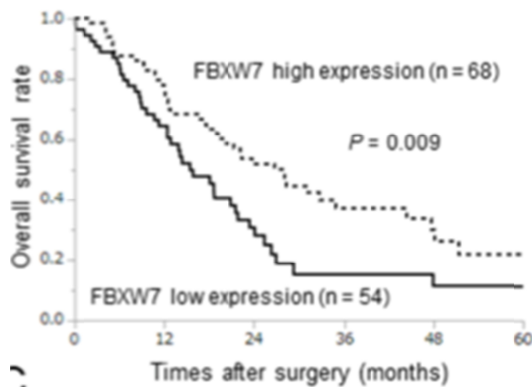


図2. 胆管がんにおける FBXW7 発現と予後



(Ishii N. and Yokobori T. et al., *Oncol Lett.* 2017 May;13(5):3653-3661.)

図3. 膵臓がんにおけるFBXW7発現と予後

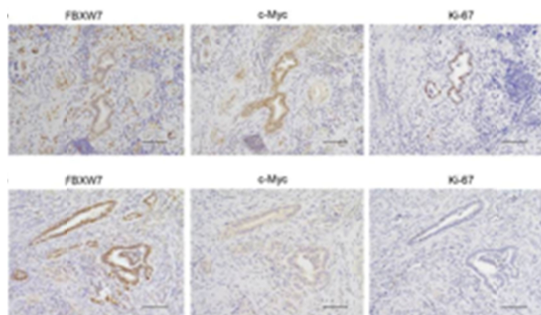


(Ishii N. and Yokobori T et al., *Oncotarget.* 2017; 8:112636-112646.)

胆管がん、膵臓がんにおけるFBXW7発現は胃がんと同様に高発現症例で予後良好と関連していた。

-3 FBXW7低発現症例はMYCタンパクが蓄積し、増殖能が亢進していた。

図4. FBXW7発現と分解ターゲットMYCと増殖能マーカーKi67発現の関係



上段はFBXW7低発現胆管がん症例であるが、分解ターゲットである癌増殖関連遺伝子MYCタンパク発現、増殖マーカーKi67発現は亢進していた。下段はFBXW7高発現症例であるが、上段の症例とは対照的に癌増殖関連遺伝子MYCタンパク発現、増殖マーカーKi67

発現は低下していた。

肺癌細胞株にMS-275を添加した結果、用量依存的にFBXW7タンパク発現が誘導されることが確認できた。

上記研究成果を以下に示す論文として発表した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計14件)

1. Ishii N, Araki K, Yokobori T, Gantumur D, Yamanaka T, Altan B, Tsukagoshi M, Igarashi T, Watanabe A, Kubo N, Hosouchi Y, Kuwano H, Shirabe K. Reduced FBXW7 expression in pancreatic cancer correlates with poor prognosis and chemotherapeutic resistance via accumulation of MCL1. *Oncotarget.* 2017 Nov 6;8(68):112636-112646. 査読あり. DOI: 10.18632/oncotarget.22634

2. Ishii N, Araki K, Yokobori T, Watanabe A, Tsukagoshi M, Kubo N, Suzuki H, Saito F, Altan B, Hosouchi Y, Shirabe K, Kuwano H. Poor prognosis in cholangiocarcinoma patients with low FBXW7 expression is improved by chemotherapy. *Oncol Lett.* 2017 May;13(5):3653-3661. 査読あり. DOI: 10.3892/ol.2017.5946

3. Tsukagoshi M, Wada S, Yokobori T, Altan B, Ishii N, Watanabe A, Kubo N, Saito F, Araki K, Suzuki H, Hosouchi Y, Kuwano H. Overexpression of natural killer group 2 member D ligands predicts favorable prognosis in cholangiocarcinoma. *Cancer Sci.* 2016 Feb;107(2):116-22. 査読あり. DOI: 10.1111/cas.12853

4. Takahashi R, Yokobori T, Osone K, Tatsuki H, Takada T, Suto T, Yajima R, Kato T, Fujii T, Tsutsumi S, Kuwano H, Asao T. Establishment of a novel method to evaluate peritoneal microdissemination and therapeutic effect using luciferase assay. *Cancer Sci.* 2016 Mar;107(3):341-6. 査読あり. DOI: 10.1111/cas.12872

5. Tsukagoshi M, Araki K, Yokobori T, Altan B, Suzuki H, Kubo N, Watanabe A, Ishii N, Hosouchi Y, Nishiyama M, Shirabe K, Kuwano H. Overexpression of karyopherin-2 in cholangiocarcinoma correlates with poor prognosis and gemcitabine sensitivity via nuclear

translocation of DNA repair proteins. *Oncotarget*. 2017 Jun 27;8(26):42159-42172. 査読あり. DOI: 10.18632/oncotarget.15020

6. Bao P, Yokobori T, Altan B, Iijima M, Azuma Y, Onozato R, Yajima T, Watanabe A, Mogi A, Shimizu K, Nagashima T, Ohtaki Y, Obayashi K, Nakazawa S, Bai T, Kawabata-Iwakawa R, Asao T, Kaira K, Nishiyama M, Kuwano H. High STMN1 Expression is Associated with Cancer Progression and Chemo-Resistance in Lung Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2017 Dec;24(13):4017-4024. 査読あり. DOI: 10.1245/s10434-017-6083-0

7. Altan B, Yokobori T, Ide M, Bai T, Yanoma T, Kimura A, Kogure N, Suzuki M, Bao P, Mochiki E, Ogata K, Handa T, Kaira K, Nishiyama M, Asao T, Oyama T, Kuwano H. High Expression of MRE11-RAD50-NBS1 Is Associated with Poor Prognosis and Chemoresistance in Gastric Cancer. *Anticancer Res*. 2016 Oct;36(10):5237-5247. 査読あり. DOI: 10.21873/anticancer.11094

8. Iijima M, Gombodorj N, Tachibana Y, Tachibana K, Yokobori T, Honma K, Nakano T, Asao T, Kuwahara R, Aoyama K, Yasuda H, Kelly M, Kuwano H, Yamanouchi D. Development of single nanometer-sized ultrafine oxygen bubbles to overcome the hypoxia-induced resistance to radiation therapy via the suppression of hypoxia-inducible factor-1. *Int J Oncol*. 2018 Mar;52(3):679-686. 査読あり. DOI:10.3892/ijo.2018.4248

9. Altan B, Yokobori T, Ide M, Mochiki E, Toyomasu Y, Kogure N, Kimura A, Hara K, Bai T, Bao P, Suzuki M, Ogata K, Asao T, Nishiyama M, Oyama T, Kuwano H. Nuclear PRMT1 expression is associated with poor prognosis and chemosensitivity in gastric cancer patients. *Gastric Cancer*. 2016 Jul;19(3):789-97. 査読あり. DOI:10.1007/s10120-015-0551-7

10. Igarashi T, Araki K, Yokobori T, Altan B, Yamanaka T, Ishii N, Tsukagoshi M, Watanabe A, Kubo N, Handa T, Hosouchi Y, Nishiyama M, Oyama T, Shirabe K, Kuwano H. Association of RAB5 overexpression in pancreatic cancer with cancer progression and poor prognosis via E-cadherin suppression. *Oncotarget*. 2017 Feb 14;8(7):12290-12300. 査読あり. DOI: 10.18632/oncotarget.14703

11. Bai T, Yokobori T, Altan B, Ide M,

Mochiki E, Yanai M, Kimura A, Kogure N, Yanoma T, Suzuki M, Bao P, Kaira K, Asao T, Katayama A, Handa T, Gombodorj N, Nishiyama M, Oyama T, Ogata K, Kuwano H. High STMN1 level is associated with chemo-resistance and poor prognosis in gastric cancer patients. *Br J Cancer*. 2017 Apr 25;116(9):1177-1185. 査読あり. DOI: 10.1038/bjc.2017.76

12. Suzuki K, Watanabe A, Araki K, Yokobori T, Harimoto N, Gantumur D, Hagiwara K, Yamanaka T, Ishii N, Tsukagoshi M, Igarashi T, Kubo N, Gombodorj N, Nishiyama M, Hosouchi Y, Kuwano H, Shirabe K. High STMN1 Expression Is Associated with Tumor Differentiation and Metastasis in Clinical Patients with Pancreatic Cancer. *Anticancer Res*. 2018 Feb;38(2):939-944. 査読あり. DOI:10.21873/anticancer.12307

13. Suzuki S, Yokobori T, Altan B, Hara K, Ozawa D, Tanaka N, Sakai M, Sano A, Sohda M, Bao H, Fukuchi M, Miyazaki T, Kaira K, Asao T, Kuwano H. High stathmin 1 expression is associated with poor prognosis and chemoradiation resistance in esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2017 Mar 7. 査読あり. DOI: 10.3892/ijo.2017.3899

14. Bao H, Bai T, Takata K, Yokobori T, Ohnaga T, Hisada T, Maeno T, Bao P, Yoshida T, Kumakura Y, Honjo H, Sakai M, Sohda M, Fukuchi M, Altan B, Handa T, Ide M, Miyazaki T, Ogata K, Oyama T, Shimizu K, Mogi A, Asao T, Shirabe K, Kuwano H, Kaira K. High expression of carcinoembryonic antigen and telomerase reverse transcriptase in circulating tumor cells is associated with poor clinical response to the immune checkpoint inhibitor nivolumab. *Oncol Lett*. 2018 Mar;15(3):3061-3067. 査読あり. DOI: 10.3892/ol.2017.7671

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：

出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

横堀 武彦 (YOKOBORI TAKEHIKO)  
群馬大学・大学院医学系研究科・講師  
研究者番号：60420098

### (2) 研究分担者

宮崎 達也 (MIYAZAKI TATSUYA)  
群馬大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：70372349

桑野 博行 (KUWANO HIROYUKI)  
群馬大学・大学院医学系研究科・教授  
研究者番号：90186560

酒井 真 (SAKAI MAKOTO)  
群馬大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：70420099

緒方 杏一 (OGATA KYOICHI)  
群馬大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：10448897  
(平成 29 年度 追加)

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：

### (4) 研究協力者

( )