

令和元年6月14日現在

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10613

研究課題名(和文) 新たな膵癌分子標的のFGFR-4に対する個別化治療の研究

研究課題名(英文) Personalized therapy for pancreatic cancer focused on FGFR-4, a novel molecular target

研究代表者

石渡 俊行 (Ishiwata, Toshiyuki)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター(東京都健康長寿医療センター研究所)・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号：90203041

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌におけるFGFR-4の発現とSNPの存在、その役割について研究を行なった。免疫組織化学的検討では、浸潤性膵管癌症例の約50%にFGFR-4の発現がみられ、腫瘍径、病期と正の相関関係を認めた。6種類のヒト膵癌培養細胞におけるFGFR-4のmRNA発現はFGFR-1～3のIIIb, IIIcとは異なった発現パターンを示していた。これらの膵癌培養細胞において、G388Rの遺伝子変異が約半数の細胞株で認められた。FGFR-4阻害剤を投与することで、膵癌培養細胞の細胞内シグナル伝達が抑制され、細胞増殖能の低下がみられた。これらより、FGFR-4がヒト膵癌の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高齢者に増加する膵癌は極めて予後不良な難治性癌で、癌細胞の表面には様々な増殖因子受容体が過剰発現している。線維芽細胞増殖因子受容体のFGFR-4が、乳癌、卵巣癌、膵癌などで過剰に発現していることが明らかになり、一部の癌では、FGFR-4のG388RのSNPが予後の増悪と関連しているとの報告もみられている。膵癌におけるFGFR-4の発現とSNPの存在、さらにその役割について研究を行なった。FGFR-4阻害剤を投与することで、膵癌培養細胞の細胞内シグナル伝達が抑制され、癌の細胞増殖が抑えられた。今回の研究から、FGFR-4の抑制がヒト膵癌の新たな治療標的となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we examined the expression and the roles of fibroblast growth factor receptor-4 (FGFR-4) and its SNP in human pancreatic cancer, which is increasing in frequency among the elderly. FGFR-4 expression was immunohistochemically detected in approximately 50% of pancreatic ductal adenocarcinomas. FGFR-4 expression correlated positively with larger primary tumors and more advanced stages of pancreatic cancer. Expression levels of FGFR-4 in 6 human pancreatic cancer cell lines were different from levels of both IIIb and IIIc isoforms of FGFR-1, 2, and 3. The G388R SNP was detected in half of the pancreatic cancer cell lines examined. An inhibitor of FGFR-4 inhibited signal transduction in pancreatic cancer cells, and reduced cell growth. These findings suggest that FGFR-4 is a novel therapeutic target for some types of pancreatic cancer.

研究分野：分子病理学

キーワード：膵癌 分子標的治療 FGFR-4 個別化治療 SNP FGFR-4阻害剤 高齢者がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

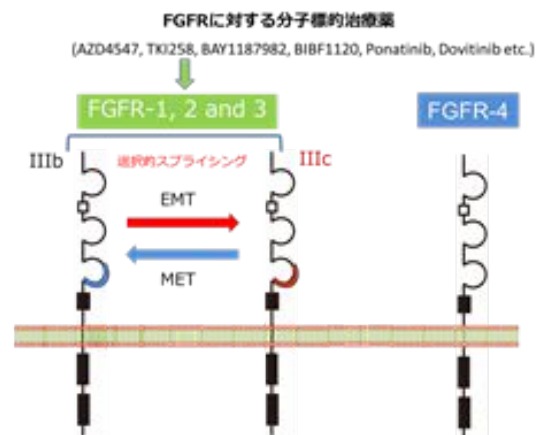
膵癌は極めて予後不良で、全癌の平均5年生存率が55%程度であるのに対し、膵癌は約6%で40年近くにわたり予後が改善されていない。その原因として、膵癌は早期診断が困難であり、診断時には既に切除不能な進行癌に至っている症例が約80%を占めること、切除不能膵癌に対する放射線化学療法の効果が限定的であること等が挙げられる。手術可能な症例においても、術後に80%の症例に再発、転移が発生している。

これまでに我々は、線維芽細胞増殖因子(fibroblast growth factor/FGF)とその受容体(FGFR)が様々な癌でどのような役割を果たしているか、また治療標的としての可能性があるかを検討してきた。膵癌と大腸癌においては、FGFR-2の発現が癌の増殖と転移に関与しており、FGFR-2が新たな治療標的となる可能性を報告した(Cancer Lett. 2011, Cancer Sci. 2014)。FGFR-1,2,3は細胞外ドメインの選択的スプライシングによってIIIbとIIIcのアイソフォームが作られ、IIIbは主に上皮細胞に、IIIcは間葉系細胞に発現し、上皮間葉転換(EMT)に関連している。FGFR-2のIIIcアイソフォーム発現を抑制することで、膵癌と大腸癌の増殖、転移を減少させることが可能であった(Am J Pathol. 2012)。また、選択的スプライシングを調節するESRP1の発現を増加させて、IIIcのアイソフォームを減少させても、膵癌の増殖と転移が抑制された(Oncogene 2014)。このようなことから、現在FGFR-2を中心にFGFR-1,3にも効果のある分子標的治療薬が多数開発され、臨床試験が行われている。しかし、これらの分子標的治療薬はFGFR-4に対してはほとんど効果がないことが明らかとなっている。

FGFR-4は乳癌、肝癌、胆管癌などの様々な癌で過剰発現が報告され、増殖への関与が注目されている。胃癌と大腸癌においてはFGFR-4の発現を抑制することで、癌の進展が制御されたとの報告もみられる。一方、FGFR-4の膜貫通部分をコードするexon 9のコドン388には、グリシンからアルギニンへ変化するsingle-nucleotide polymorphism (G388R)の存在が知られている。このSNPを有する前立腺癌、頭頸部癌、肺癌、乳癌の症例は、SNPのない症例と比べて予後が悪いことが報告されている。膵神経内分泌腫瘍(pNET)の培養細胞へFGFR-4のG388R変異ベクターを遺伝子導入すると、wild typeのFGFR-4ベクターの導入よりも、腹腔内播種と肝転移が増加したという報告もみられる(Cancer Res, 2012)。膵癌におけるFGFR-4とそのSNPについての研究は未だ進んでいない状況であった。

2. 研究の目的

FGFR-4のG388RのSNPが乳癌、肝癌などの予後増悪と関連しているという報告が相次いでなされ、FGFR-4の癌における役割が注目されていた。癌に発現するFGFR-1,2,3に対しては現在、多くの分子標的治療薬の臨床試験がなされているが、我々は予備実験でFGFR-1,2,3の発現が少ない膵癌細胞に、FGFR-4が高発現していることを発見した。さらにFGFR-4がヒト膵癌組織と培養細胞に発現していることを確認した。本研究では、FGFR-4の膵癌における発現の程度と役割を解明し、SNPの関与を明らかにする。これによりFGFR-4のシグナル伝達系の阻害による次世代の分子標的治療薬の開発と、個別化治療への道を開くことを目的とする。



3. 研究の方法

1) 膵癌における FGFR-4 の発現の検討: 136 例のヒト膵癌手術材料を用いて、FGFR-4 の免疫組織化学染色を行ない FGFR-4 の発現と膵癌の臨床病理学的因子との関連を検討した。6 種類のヒト膵癌培養細胞における FGFR-4 mRNA と FGFR1-3 の IIIb, IIIc アイソフォームの mRNA 発現レベルを、定量的 PCR 法を用いて測定した。

2) 膵癌培養細胞における FGFR-4 の SNP の検討: 6 種類のヒト膵癌培養細胞の SNP についてダイレクトシーケンス法を用いて、遺伝子解析を行なった。

3) FGFR-4 阻害による効果の検討: FGFR-4 阻害剤の BLU9931 を用いて、FGFR-4 を制御した際の抗腫瘍効果を *in vitro* で検討した。FGFR-4 阻害による細胞増殖能への影響を検討した。

4. 研究成果

免疫組織化学的検討では、浸潤性膵管癌症例の約 50% に FGFR-4 の発現がみられ、FGFR-4 の発現と腫瘍径、病期に統計学的に正の相関関係を認めたことから、FGFR-4 の発現が膵癌の増殖に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。6 種類のヒト膵癌培養細胞における、FGFR-1~3 の選択的スプライシングバリエーションの IIIb, IIIc アイソフォームと、FGFR-4 の mRNA 発現パターンを定量的 PCR 法を用いて検討したところ、FGFR-4 は FGFR-1~3 の IIIb, IIIc とは異なった発現パターンを示していた。これらの膵癌培養細胞において G388R の遺伝子変異は半数の細胞株で認められた。FGFR-4 の主要なリガンドである FGF-19 は検討した全ての膵癌培養細胞にその発現が認められた。FGFR-4 阻害剤を投与することで、膵癌培養細胞の ERK 等の細胞内シグナル伝達が抑制され、細胞増殖能の低下がみられた。これらより、FGFR-4 がヒト膵癌の新たな治療標的となる可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1: Sasaki N, Itakura Y, Gomi F, Hirano K, Toyoda M, Ishiwata T. Comparison of functional glycans between cancer stem cells and normal stem cells. *Histol Histopathol*. 2019 Apr 26;18119. doi: 10.14670/HH-18-119. [Epub ahead of print] Review. PubMed PMID: 31025698.

2: Sasaki N, Toyoda M, Hasegawa F, Fujiwara M, Gomi F, Ishiwata T. Fetal bovine serum enlarges the size of human pancreatic cancer spheres accompanied by an increase in the expression of cancer stem cell markers. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019 Jun 18;514(1):112-117. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.04.117. Epub 2019 Apr 23. PubMed PMID: 31027735.

3: Sasaki N, Toyoda M, Yoshimura H, Matsuda Y, Arai T, Takubo K, Aida J, Ishiwata T. H19 long non-coding RNA contributes to sphere formation and invasion through regulation of CD24 and integrin expression in pancreatic cancer cells. *Oncotarget*. 2018 Oct 5;9(78):34719-34734. doi: 10.18632/oncotarget.26176. eCollection 2018 Oct 5. PubMed PMID: 30410672; PubMed Central PMCID: PMC6205177.

4: Ishiwata T, Matsuda Y, Yoshimura H, Sasaki N, Ishiwata S, Ishikawa N, Takubo K, Arai T, Aida J. Pancreatic cancer stem cells: features and detection methods.

Pathol Oncol Res. 2018 Oct;24(4):797-805. doi: 10.1007/s12253-018-0420-x. Epub 2018 Jun 8. Review. PubMed PMID: 29948612.

5: Yoshimura H, Matsuda Y, Yamamoto M, Michishita M, Takahashi K, Sasaki N, Ishikawa N, Aida J, Takubo K, Arai T, Ishiwata T. Reduced expression of the H19 long non-coding RNA inhibits pancreatic cancer metastasis. Lab Invest. 2018 Jun;98(6):814-824. doi: 10.1038/s41374-018-0048-1. Epub 2018 Mar 26. PubMed PMID: 29581580.

6: Ishiwata T, Hasegawa F, Michishita M, Sasaki N, Ishikawa N, Takubo K, Matsuda Y, Arai T, Aida J. Electron microscopic analysis of different cell types in human pancreatic cancer spheres. Oncol Lett. 2018 Feb;15(2):2485-2490. doi: 10.3892/ol.2017.7554. Epub 2017 Dec 8. PubMed PMID: 29434962; PubMed Central PMCID: PMC5777357.

〔学会発表〕(計1件)

1. Ishiwata T, Yoshimura H, Matsuda Y, Arai T, Ishikawa N, Aida J, Takubo K, Ishiwata S. Fibroblast growth factor receptor-4 (FGFR-4) as a novel therapeutic target for pancreatic cancer. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2016, New Orleans, LA, USA, 2016-04-16 - 2016-04-20

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.tmgig.jp/research/team/rounenbyorigaku/koureishagan/>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：吉村 久志

ローマ字氏名：YOSHIMURA, hisashi
所属研究機関名：日本獣医生命科学大学
部局名：獣医学部
職名：講師
研究者番号（8桁）：70645241

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。