

平成 22 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2006-2009

課題番号：18390369

研究課題名 (和文) スキルス胃癌の病態と分子標的治療

研究課題名 (英文) Molecular targeting for scirrhous gastric cancer

研究代表者

平川 弘聖 (HIRAKAWA KOSEI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40188652

研究成果の概要 (和文)：スキルス胃癌細胞は、同所性である胃線維芽細胞が産生する KGF により増殖促進をうけ、また COX2 シグナルにより浸潤促進をうけている。これら KGF をリガンドとする増殖因子レセプター-FGF-R2 や COX2 シグナルはスキルス胃癌細胞—間質細胞相互作用に関与している。この FGF-R2 や COX2 シグナルを分子標的とした治療がスキルス胃癌に有用であることが明らかになった。

研究成果の概要 (英文)：Scirrhous gastric carcinoma is characterized by rapid cancer cell infiltration and proliferation accompanied by extensive stromal fibrosis. Scirrhous carcinomas carry a worse prognosis than other types of gastric carcinoma. Keratinocyte growth factor (KGF); a ligand of FGF-R2, produced by gastric fibroblasts is likely to contribute in a paracrine manner to the remarkable cell proliferation seen in scirrhous gastric cancer with *FGF-R2* amplification. Also, COX2 signal from stromal fibroblasts stimulates the invasion ability of scirrhous gastric cancer cells. The FGF-R2 phosphorylation inhibitor or COX2 inhibitor appear therapeutically promising in scirrhous gastric carcinoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2007 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
総計	6,200,000	1,860,000	8,060,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：スキルス胃癌・分子標的治療・FGFR 阻害剤・抗癌剤・トランスレーショナルリサーチ

1. 研究開始当初の背景

近年、診断技術の進歩により早期に発見される胃癌が増加し、胃癌全体の治療成績は著しく向上している。しかし、スキルス胃癌は

今日でもなお早期診断が困難で発見時にはすでに進行癌で見つかることが多く、さらに腹膜播種性転移やリンパ節転移を伴うことも多いため治療成績が極めて不良である。ス

キルス胃癌は組織学的に癌細胞がびまん性に浸潤し線維組織の増生が多いものとされている。スキルス胃癌はこのように他の胃癌と異なった生物学的特徴を有するにもかかわらず、依然として他の胃癌と同様の治療が行われていることが治療成績不良の一因と考えられる。スキルス胃癌の増殖進展機序の解析が行われきたが、未だ十分には機序の解明がされていないのが現状である。従ってスキルス胃癌の治療成績向上には、病態解明とその機序に立脚した新しい治療法の開発が急務とされている。

2. 研究の目的

スキルス胃癌は急速広範に増殖浸潤する特徴を有し、診断された時点には根治手術が不可能であることが多く、他型の胃癌に比し極めて予後不良である。我々の研究により、胃線維芽細胞の産生する KGF (Keratinocyte growth factor) がスキルス胃癌細胞の増殖進展に関与し、そのリガンドである K-samII がスキルス胃癌細胞に強く発現していることが重要であることを明らかにした。K-samII は、チロシンキナーゼ型の増殖因子レセプター KGFreceptor をコードし、スキルス胃癌細胞に高発現していることが明らかになっている。これらの事実から、胃線維芽細胞-スキルス胃癌細胞の相互作用に関与する KGF/K-samII を標的とした阻害薬はスキルス胃癌の治療に有用と考えられる。また我々の研究により、COX2 は、胃線維芽細胞に発現し KGF や HGF 増殖因子の産生を調節していることを明らかにした。スキルス胃癌においても、COX2 が線維芽細胞-癌細胞相互作用を阻害する可能性が推測される。そこで今回、これらスキルス胃癌の病態機序に立脚して、新しい分子標的治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1). スキルス胃癌に対する K-samII 阻害剤 (Ki23057) の有用性を *in vivo*, *in vitro* にて明らかにする。また、手術摘出標本を用いて、*in vitro* 感受性試験を行い K-samII 阻害剤の有用性を検討する。

(2). COX-2 阻害剤 (JTE-522) が、スキルス胃癌と胃線維芽細胞との相互作用に及ぼす影響や胃線維芽細胞の KGF 産生に及ぼす影響を明らかにする。

4. 研究成果

(1). K-samII 阻害剤によるスキルス胃癌細胞増殖抑制効果
スキルス胃癌は FGFR2 発現率が高く、発現例は有意に予後不良であったことから、FGF-R2 阻害剤 Ki23057 がスキルス胃癌細胞に及ぼす影響を行った。Ki23057 はスキルス

胃癌細胞株の増殖を抑制するが、高分化型胃癌細胞の増殖は抑制しない。すなわち、FGF-R2/K-samII リン酸化阻害剤 Ki23057 はスキルス胃癌細胞の増殖を特異的に抑制する事が明らかになった。一方、非スキルス胃癌細胞は抑制されない。次に、FGF-R2 の下流シグナルを検討すると、Ki23057 はスキルス胃癌細胞の発現する MAPK 経路の ERK リン酸化、PI3K 経路の Akt リン酸化を抑制した。アポトーシスにおよぼす影響を Flowcytometry にて検討すると、control (2.3%) に比し Ki23057 の 100 nM と 1000 nM 投与にて Annexin V 陽性かつ Propidium iodide 陰性の早期アポトーシス細胞が有意に増加する (12.1%, 20.0%)。さらに抗がん剤 5FU 投与により、アポトーシスが増強された。これらることより、Ki23057 の FGF-R2 リン酸化阻害作用が、MAP キナーゼ系や PI3 キナーゼ系を抑制しアポトーシスを誘導することでスキルス胃癌細胞の増殖を抑制し、さらには 5FU の抗腫瘍効果増強が示唆された。

(2). COX-2 阻害剤 (JTE-522) を用いたスキルス胃癌の新しい治療

腫瘍組織において COX-2 は主に間質系細胞に認められ、線維芽細胞における COX-2 の発現が腫瘍細胞の増殖進展に関与することが報告されている。スキルス胃癌細胞と胃の線維芽細胞との相互作用の機序に基づいて、COX-2 阻害剤によるスキルス胃癌の増殖進展抑制効果について *in vivo*, *in vitro* にて検討を行った。

材料にはスキルス胃癌細胞株、胃線維芽細胞株を用い、COX-2 inhibitor として JTE522 を用いた。方法は、*in vitro* では JTE522 の処理を行った線維芽細胞および非処理の線維芽細胞の培養上清をそれぞれ添加し、スキルス胃癌細胞の増殖浸潤に及ぼす影響を検討した。また、*in vivo* の検討では、ヌードマウスの皮下にスキルス胃癌細胞を単独に接種した群とスキルス胃癌細胞と胃線維芽細胞を混合接種した群を作成し、JTE522 の経口投与が各群の増殖に及ぼす影響を検討した。

その結果、胃線維芽細胞は、スキルス胃癌細胞の増殖や浸潤を有意に促進させた。COX-2 inhibitor は胃線維芽細胞が有するスキルス胃癌細胞の増殖浸潤促進作用を抑制した。COX-2 inhibitor の浸潤抑制機序として、胃線維芽細胞からの PGE2 の産生を抑制することで HGF の産生抑制が考えられた。以上のことから、胃線維芽細胞の COX-2 はスキルス胃癌の増殖進展に関与しており、COX-2 阻害剤はスキルス胃癌の治療に有用であることが示唆された。

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45件)

1. Yashiro, M., Shinto, O., Nakamura, K., Tendo, M., Matsuoka, T., Matsuzaki, T., Kaizaki, R., Ohira, M., Miwa, A., and Hirakawa, K. Effects of VEGFR-3 phosphorylation inhibitor on lymph node metastasis in an orthotopic diffuse-type gastric carcinoma model. **Br J Cancer**, *101*: 1100-1106, 2009(査読あり).
2. Komuro, A., Yashiro, M., Iwata, C., Morishita, Y., Johansson, E., Matsumoto, Y., Watanabe, A., Aburatani, H., Miyoshi, H., Kiyono, K., Shirai, Y. T., Suzuki, H. I., Hirakawa, K., Kano, M. R., and Miyazono, K. Diffuse-type gastric carcinoma: progression, angiogenesis, and transforming growth factor beta signaling. **J Natl Cancer Inst**, *101*: 592-604, 2009(査読あり).
3. Yashiro, M., Yasuda, K., Nishii, T., Kaizaki, R., Sawada, T., Ohira, M., and Hirakawa, K. Epigenetic regulation of the embryonic oncogene ERas in gastric cancer cells. **Int J Oncol**, *35*: 997-1003, 2009(査読あり).
4. Yashiro, M., Shinto, O., Nakamura, K., Tendo, M., Matsuoka, T., Matsuzaki, T., Kaizaki, R., Miwa, A., and Hirakawa, K. Synergistic antitumor effects of FGFR2 inhibitor with 5-fluorouracil on scirrhous gastric carcinoma. **Int J Cancer**, 2009(査読あり).
5. Yashiro, M., Inoue, T., Nishioka, N., Matsuoka, T., Boland, C. R., and Hirakawa, K. Allelic imbalance at p53 and microsatellite instability are predictive markers for resistance to chemotherapy in gastric carcinoma. **Ann Surg Oncol**, *16*: 2926-2935, 2009(査読あり).
6. Toyokawa, T., Yashiro, M., and Hirakawa, K. Co-expression of keratinocyte growth factor and K-sam is an independent prognostic factor in gastric carcinoma. **Oncol Rep**, *21*: 875-880, 2009(査読あり).
7. Semba, S., Kodama, Y., Ohnuma, K., Mizuuchi, E., Masuda, R., Yashiro, M., Hirakawa, K., and Yokozaki, H. Direct cancer-stromal interaction increases fibroblast proliferation and enhances invasive properties of scirrhous-type gastric carcinoma cells. **Br J Cancer**, 2009(査読あり).
8. Matsuzaki, T., Yashiro, M., Kaizaki, R., Yasuda, K., Doi, Y., Sawada, T., Ohira, M., and Hirakawa, K. Synergistic antiproliferative effect of mTOR inhibitors in combination with 5-fluorouracil in scirrhous gastric cancer. **Cancer Sci**, 2009(査読あり).
9. Kaizaki, R., Yashiro, M., Shinto, O., Yasuda, K., and Hirakawa, K. Expression of ERas oncogene in gastric carcinoma. **Anticancer Res**, *29*: 2189-2193, 2009(査読あり).
10. Kunii K, Davis L, Gorenstein J, Hatch H, Yashiro M, Di Bacco A, Elbi C, Lutterbach B.. FGFR2-amplified gastric cancer cell lines require FGFR2 and Erbb3 signaling for growth and survival. **Cancer Res** 2008;68(7):2340-8(査読あり).
11. Kawajiri, H., Yashiro, M., Shinto, O., Nakamura, K., Tendo, M., Takemura, S., Node, M., Hamashima, Y., Kajimoto, T., Sawada, T., Ohira, M., and Hirakawa, K. A novel transforming growth factor beta receptor kinase inhibitor, A-77, prevents the peritoneal dissemination of scirrhous gastric carcinoma. **Clin Cancer Res**, *14*: 2850-2860, 2008(査読あり).
12. Fujiwara, I., Yashiro, M., Kubo, N., Maeda, K., and Hirakawa, K. Ulcerative colitis-associated colorectal cancer is frequently associated with the microsatellite instability pathway. **Dis Colon Rectum**, *51*: 1387-1394, 2008(査読あり).
13. Yashiro, M., Nakazawa, K., Tendo, M., Kosaka, K., Shinto, O., and Hirakawa, K. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor downregulates the paracrine epithelial-mesenchymal interactions of growth in scirrhous gastric carcinoma. **Int J Cancer**, *120*: 686-693, 2007(査読あり).
14. Kano, M. R., Bae, Y., Iwata, C., Morishita, Y., Yashiro, M., Oka, M., Fujii, T., Komuro, A., Kiyono, K., Kaminishi, M., Hirakawa, K., Ouchi, Y., Nishiyama, N., Kataoka, K., and Miyazono, K. Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF-beta signaling. **Proc Natl Acad Sci U S A**, *104*: 3460-3465, 2007(査読あり).
15. Iwata, C., Kano, M. R., Komuro, A., Oka, M., Kiyono, K., Johansson, E., Morishita, Y., Yashiro, M., Hirakawa, K., Kaminishi, M., and Miyazono, K. Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses lymph node metastasis via reduction of lymphangiogenesis. **Cancer Res**, *67*: 10181-10189, 2007(査読あり).
16. Katsuragi, K., Yashiro, M., Sawada, T., Osaka, H., Ohira, M., and Hirakawa, K. Prognostic impact of PCR-based identification of isolated tumour cells in the peritoneal lavage fluid of gastric cancer patients who underwent a curative R0 resection. **Br J Cancer**, *97*: 550-556, 2007(査読あり).
17. Yashiro, M., Nishioka, N., and Hirakawa, K. Decreased expression of the adhesion molecule desmoglein-2 is associated with diffuse-type gastric carcinoma. **Eur J Cancer**, *42*: 2397-2403, 2006(査読あり).
18. Tendo, M., Yashiro, M., Nakazawa, K., Yamada, N., Sawada, T., Ohira, M., and Hirakawa, K. A synergic inhibitory-effect of combination with selective cyclooxygenase-2 inhibitor and S-1 on the peritoneal metastasis for scirrhous gastric cancer cells. **Cancer Lett**, *244*: 247-251, 2006(査読あり).
19. Nakamura, K., Yashiro, M., Matsuoka, T., Tendo, M., Shimizu, T., Miwa, A., and Hirakawa, K. A novel molecular targeting compound as K-samII/FGF-R2 phosphorylation inhibitor, Ki23057, for Scirrhous gastric cancer. **Gastroenterology**, *131*: 1530-1541, 2006(査読あり).
20. Kubo, N., Onoda, N., Ishikawa, T., Ogawa, Y., Takashima, T., Yamashita, Y., Tahara, H., Inaba, M., and Hirakawa, K. Simultaneous bilateral laparoscopic adrenalectomy for adrenocorticotrophic hormone-independent macronodular adrenal hyperplasia: report of a case. **Surg Today**, *36*: 642-646, 2006(査読あり).
21. Kimura, K., Sawada, T., Komatsu, M., Inoue, M., MUGURUMA, K., NISHIHARA, T., YAMASHITA, Y., YAMADA, N., OHIRA, M., and Hirakawa, K. Antitumor effect of trastuzumab for pancreatic cancer with high

HER-2 expression and enhancement of effect by combined therapy with gemcitabine. **Clin Cancer Res**, 12: 4925-4932, 2006(査読あり).

[学会発表] (計72件)

1. A Novel Molecular Targeting Compound as K-samII/FGFR2 Phosphorylation Inhibitor, Ki23057, for Scirrhou Gastric Cancer, 2008.4.14, 102th American Association for Cancer Research, .San Diego, Yashiro, M., Nakamura, K., Matsuoka, T., Tendo, M., Shimizu, T., Miwa, A. Hirakawa, K.
2. スキルス胃癌の分子標的治療、2007年3月2日、第79回日本胃癌学会総会名古屋、八代正和、川尻成美、神藤理、井上透、西口幸雄、加藤保之、宮園浩平、野出学、榎本哲也、三輪篤史、平川弘聖.
3. Anti-tumor Effect of Fibroblast Growth Factor Receptor type2 (FGF-R2)Inhibitor On Gastric Cancer Cells, 2007.3.6, NEW TARGETS AND DELIVERY SYSTEMS FOR CANCER DIAGNOSIS AND TREATMENT, .San Diego, M.Yashiro, O.Shinto, T.Nishii, K.Nakamura, T.Inoue, A.Miwa, K.Hirakawa
4. Selective cyclooxygenase-2 inhibitor down-regulates the paracrine epithelial-mesenchymal interactions of growth in scirrhou gastric carcinoma, 2007.4.16, 101th American Association for Cancer Research,.Los Angels, Yashiro M, Nakazawa, K., Tendo, M., Kosaka, K., Shinto, O., Hirakawa, K.
5. FGF-R2/K-sam II および TGF- β receptor を分子標的としたスキルス胃癌転移の治療、2007年7月18日、第62回日本消化器外科学会定期学術総会、東京、八代正和、川尻成美、神藤理、中村和憲、豊川貴弘、宮園浩平、野出学、榎本哲也、三輪篤史、平川弘聖.
6. スキルス胃癌の分子標的治療、2007年10月26日、第45回日本癌治療学会総会、京都、八代正和、中村和憲、川尻成美、神藤理、豊川貴弘、宮園浩平、野出学、榎本哲也、三輪篤史、平川弘聖.
7. スキルス胃癌進展における病態と分子標的治療、2007年11月9日、第18回日本消化器癌発生学会総会、札幌、八代正和、中村和憲、豊川貴弘、井上透、山田靖哉、山下好人、前田清、小野田尚佳、澤田鉄二、仲田文造、加藤保之、大平雅一、石川哲郎、三輪篤史、平川弘聖.

8. スキルス胃癌の病態と分子標的治、2006年3月11日、第78回日本胃癌学会総会、大阪、八代正和、中村和憲、井上透、山田靖哉、西口幸雄、澤田鉄二、大平雅一、前田清、加藤保之、石川哲郎、平川弘聖.
9. DYSPLASIA-COLITIC CANCER SEQUENCE IN ULCERATIVE COLITIS IS FREQUENTLY ASSOCIATED WITH MICROSATELLITE INSTABILITY PATHWAY., 2006.7.8, 12th International Conference on Ulcer Research (ICUR) , Osaka, M.Yashiro, I.Fujiwara, N Kubo, K.Maeda, K.Hirakawa
10. Fibroblast growth factor receptor2/K-sam II を分子標的としたスキルス胃癌の治療、2006年10月11日、第48回日本消化器病学会大会、札幌、八代正和、中村和憲、平川弘聖.
11. TGF β レセプター阻害剤と抗腫瘍剤 (S-1) の併用によるスキルス胃癌の新規治療法、2006年10月11日、第48回日本消化器病学会大会、札幌、八代正和、川尻成美、平川弘聖.

[図書] (計3件)

スキルス胃癌—基礎と臨床—(新編) 2010、曾和融生、井藤久雄 編.. 医薬ジャーナル社.平川弘聖、八代正和

[産業財産権]

○出願状況 (計2件)

1. 名称：プライマー、腫瘍マーカー、及び癌の検出方法

発明者：八代正和、平川弘聖、澤田鉄二

権利者：財団法人大阪産業振興機構、八代正和、平川弘聖、澤田鉄二

種類：国際特許 C 1 2 N 1 5 / 0 9

番号：PCT/JP2007/59986

出願年月日：2007年5月15日

国内外の別：国際特許

2. 名称：TGF- β シグナル阻害剤と抗腫瘍剤の組み合わせ使用

発明者：片岡一則(東京大学)、宮園浩平(東京大学)、狩野光伸(東京大学)、平川弘聖(大阪市立大学)、八代正和(大阪市立大学)、野出学(京都薬科大学)、Bae Younsoo(東京大学)、西山伸宏(東京大学)

権利者：科学技術振興機構

種類：国際特許

番号：JP2006-317593 特願 2006-24843、特願

2006-24845

出願年月日：2006年8月30日

国内外の別：国際特許

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.osaka-cu.ac.jp/surgical-oncology/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

平川 弘聖 (HIRAKAWA KOSEI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：40188652

(2)研究分担者

八代 正和 (YASHIRO MASAKAZU)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：60305638