

令和 3 年 5 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18116

研究課題名（和文）膵癌における放射線耐性獲得時のc-metの発現意義と新規放射線治療法の開発

研究課題名（英文）The clinical significance of c-Met expression in PDAC patients with radiation therapy.

研究代表者

森 総一郎 (Mori, Soichiro)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：90804451

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：膵癌におけるRTによるc-Metの発現変化及びその腫瘍学的意義について評価し、c-Met阻害薬の有用性について検討した。

まず膵癌細胞株へRT照射し、c-Met発現の誘導を確認した。また、FACSを用いて分離したc-Met高発現細胞での浸潤能の亢進を確認した。次にc-Met強制発現株を樹立し、誘導されたc-Metが浸潤能、遊走能の亢進に關与することを示した。最後に、c-Met阻害薬INC280による悪性能の抑制効果を示した。

以上より、膵癌NACRTへのc-Met阻害薬の追加により、c-Met発現誘導を介した悪性能の増強を改善し、より効果的な術前治療戦略の構築に繋が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

膵癌は非常に予後の悪い癌種であり、その予後改善には手術のみではなく集学的治療が必須と考えられている。その一つに放射線照射が挙げられるが、放射線照射は良好な局所制御効果が得られる一方で、一部の癌細胞の悪性能の亢進を惹起し遠隔転移を増加させる可能性が報告されている。

本研究では膵癌細胞が放射線照射に対してc-Met発現誘導を介して悪性能の亢進を認め、またc-Met阻害薬にてその悪性能亢進の抑制ができることが示された。

本研究の結果より膵癌に対するNACRTにより良好な局所制御効果と遠隔転移の抑制効果が期待でき、より効果的な治療戦略の構築に繋がる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）： In the current study, we evaluated the sequential change of c-Met expression in pancreatic cancer cells following irradiation and found that irradiation transiently induced c-Met expression. Irradiated pancreatic cancer cells with enhanced c-Met expression exhibited higher malignant potential, including invasion and migration ability, compared with cells showing low c-Met expression. Pancreatic cancer cells that overexpressed c-Met also showed enhanced malignant potential, which was reversed by c-Met inhibition. Additionally, c-Met inhibitor suppressed the metastatic potential in a liver metastasis mouse model using c-Met-overexpressing cells.

Overall, our present results revealed that irradiation could induce c-Met expression in pancreatic cancer cells, leading to enhanced malignant potential and thus promoting distant metastasis.

Moreover, a c-Met inhibitor could reverse this enhanced malignant potential.

研究分野：膵癌

キーワード：放射線治療 c-Met 肝転移 膵癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵癌は本邦において癌死亡数の第4位に位置付けられており、膵癌全体の5年生存率は8%と、他癌種と比較しても極めて予後不良である。唯一の根治治療である手術療法を施行してもその5年生存率は約30%と極めて悪いため、治療成績の向上を目指して多くの施設で積極的に術前治療が行われている。しかし膵癌は元来治療抵抗性が強いいため、奏効率は20-30%と決して満足のいくものではない。

当科では手術治療効果の向上を期待して術前放射線化学療法(CRT)を積極的に取り入れてきた<sup>1</sup>。術前CRTを行うことで、局所進展因子は良好に抑制され局所再発は減少したが、一方で術後遠隔転移再発率にはあまり変化が認められなかった。遠隔転移再発率に改善が得られなかったことについては、世界中から同様の報告がなされていることから、術前CRTにより膵癌が治療抵抗性を獲得していることが考えられるが、その機序については十分に解明されていないのが現状である。

治療抵抗性の原因の一つとして、癌幹細胞(CSC)の存在が挙げられる<sup>2</sup>。われわれは膵癌のCSCマーカーの一つであるc-Metに注目し、c-Metの発現が膵癌患者の予後にどのように関わり、術前CRTがc-Metの発現にどのような影響を及ぼすのかについて検討してきた。

膵癌切除検体の検討では、c-Met高発現症例は低発現症例と比較して有意に無再発生存期間・全生存期間が短いことが判明した。また、術前CRTを施行した症例の一部ではc-Met発現膵癌細胞の数が増えている事を示した<sup>3</sup>。

膵癌細胞への放射線照射に対するc-Met発現変化とその意義についてはまだ不明な点が多く、その発現変化と細胞機能変化の検討は膵癌の新たな治療戦略に新たなアプローチの一助になると思われる。

### 2. 研究の目的

本研究では、放射線照射後の膵癌細胞のc-Met発現変化を観察することでc-Met発現が放射線照射によって誘導されているのかを検討する。さらに、c-Met強制発現膵癌細胞株を作成しその細胞機能変化とc-Met阻害薬による治療効果を評価することで、膵癌放射線治療におけるc-Met阻害薬の追加効果の可能性について解明する。

### 3. 研究の方法

膵癌細胞に放射線照射を行い、照射後のc-Met発現変化についてフローサイトメトリーを用いて経時的に評価する。また、皮下腫瘍モデルマウスに放射線照射を行うことによって生体内での放射線照射に対するc-Met発現変化についても評価を行う。次に、c-Met発現によって膵癌細胞を細胞分離することでその細胞機能変化を評価する。さらに、c-Met高発現膵癌細胞株を作成し、c-Met発現による細胞機能変化について検討し、c-Met阻害薬の効果について評価する。また、皮下腫瘍モデルマウス、肝転移モデルマウスを作成し、生体内でのc-Met阻害薬の効果について検討する。

### 4. 研究成果

まず、膵癌細胞株に放射線照射を行いその後のc-Met発現についてフローサイトメトリーで評価したところ、照射後一過性にc-Met発現が増強することが明らかになった(図1)。c-Met低発現膵癌細胞に放射線照射を行い、照射後のc-Met発現亢進を確認することで、c-Met発現が放射線照射により誘導されることを示した(図2)。

図1

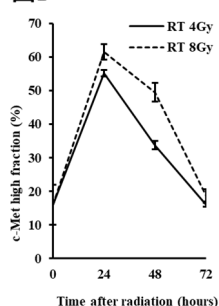
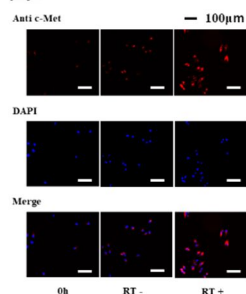
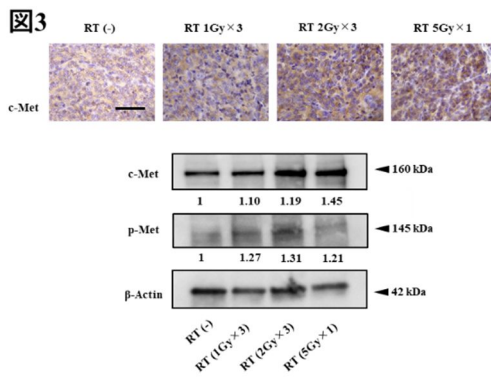


図2

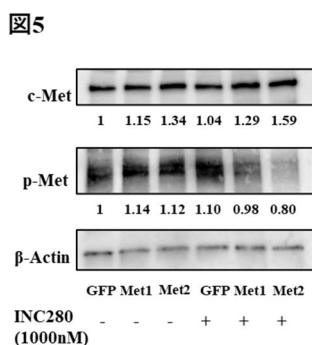
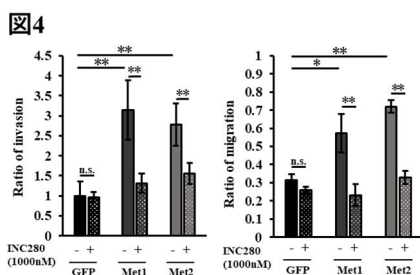


また、皮下腫瘍モデルマウスに放射線照射を行い、*in vitro* と同様に放射線照射後皮下腫瘍内の c-Met 発現が亢進することを確認した。同時に c-Met 下流のリン酸化経路である p-Met の発現について評価したところ、こちらも放射線照射後に発現亢進することが明らかになった (図3)。



次にレンチウイルスベクターを使用し c-Met 高発現腫瘍細胞株を作成し、その細胞機能変化について評価した。c-Met 高発現腫瘍細胞ではコントロール株と比較して有意に浸潤能・遊走能が亢進することが明らかになった。c-Met 阻害薬 (INC280) を添加したところ c-Met 高発現腫瘍細胞の浸潤能・遊走能の亢進は有意に抑制することができた (図4)。

また、INC280 の効果については、c-Met 下流のリン酸化の抑制によるものであることが western blotting により明らかになった (図5)。



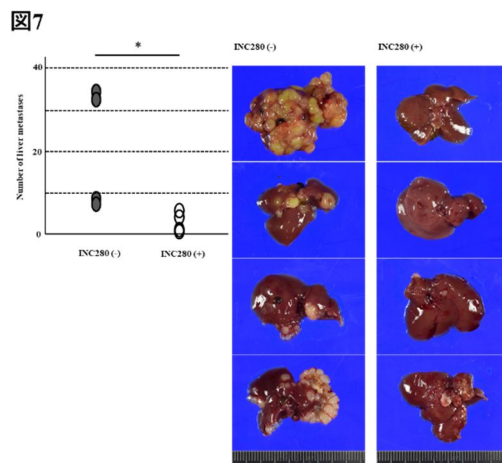
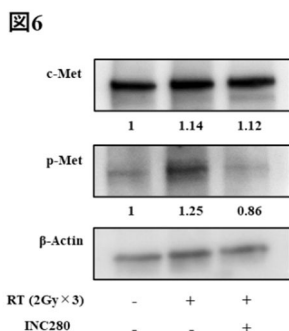
最後に生体内での INC280 の効果について評価を行った。

まず腫瘍細胞の NOD/SCID マウス皮下注により皮下腫瘍モデルを作成した。皮下腫瘍モデルマウスに INC280 を連日経口投与しながら放射線照射を行ったところ、*in vitro* と同様に p-Met の発現抑制効果が示された (図6)。

次に c-Met 高発現腫瘍細胞を NOD/SCID マウスに脾注することによって肝転移モデルを作成した。コントロール株の脾注では肝転移は出現せず、c-Met 高発現腫瘍細胞株は高い転移能を有することが明らかになった。

INC280 を内服させながら c-Met 高発現腫瘍細胞を脾注することで肝転移は著明に抑制され、INC280 内服の遠隔転移抑制効果が示された (図7)。

今後さらに放射線照射によって腫瘍細胞で c-Met 発現が誘導される機序について解明を進める予定である。



(引用文献)

1. Y. Takeda, S. Nakamori, H. Eguchi, et al. Neoadjuvant gemcitabine-based accelerated hyperfraction chemoradiotherapy for patients with borderline resectable pancreatic adenocarcinoma. *Jpn J Clin Oncol*, 44 (2014) 1172-80.

2. D.B. Evans, G.R. Varadhachary, C.H. Crane, et al. Preoperative gemcitabine-based chemoradiation for patients with resectable adenocarcinoma of the pancreatic head, *J Clin Oncol*, 26 (2008) 3496-3502.
3. H. Tomihara, D. Yamada, H. Eguchi, et al. MicroRNA-181b-5p, ETS1, and the c-Met pathway exacerbate the prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma after radiation therapy, *Cancer Sci*, 108 (2017) 398-407.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 S. Mori, H. Akita, S. Kobayashi, Y. Iwagami, D. Yamada, Y. Tomimaru, T. Noda, K. Gotoh, Y. Takeda, M. Tanemura, Y. Doki, H. Eguchi	4. 巻 -
2. 論文標題 Inhibition of c-MET reverses radiation-induced malignant potential in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 森総一郎、秋田裕史、江口英利、岩上佳史、山田大作、浅岡忠文、野田剛広、後藤邦仁、小林省吾、森正樹、土岐祐一郎
2. 発表標題 膵癌放射線治療における c-Met発現の重要性
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 森総一郎、秋田裕史、江口英利、岩上佳史、富丸慶人野田剛広、後藤邦仁、小林省吾、森正樹、土岐祐一郎
2. 発表標題 膵癌放射線治療における膵癌幹細胞マーカーc-Met発現の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第74回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2019年～2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------