

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：74314
 研究種目：研究活動スタート支援
 研究期間：2021～2022
 課題番号：21K20818
 研究課題名（和文）大腸癌幹細胞を用いた繊維芽細胞増殖因子受容体阻害薬の感受性予測マーカーの開発

 研究課題名（英文）Development of Predictive Markers for Sensitivity to Fibroblast Growth Factor Receptor Inhibitors Using Colorectal Cancer Stem Cells

 研究代表者
 山本 健人（Yamamoto, Takehito）

 公益財団法人田附興風会・医学研究所 腫瘍研究部・研究員

 研究者番号：10909310
 交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、繊維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）阻害薬の大腸癌への臨床応用を目的とし、FGFR阻害薬が効果を示す大腸癌患者の抽出を可能とするバイオマーカーの探索を行った。当施設で原発巣切除を行った大腸癌患者を対象に、切除した腫瘍から幹細胞スフェロイドを樹立し、FGFR阻害薬の効果を確認したところ、RAS/RAF野生型大腸癌の約28%に感受性を認めた。この結果はFGFR遺伝子の変異やコピー数、発現レベルと関連しなかったが、FGFR遺伝子とEGFR遺伝子の発現レベル比「F/E」がFGFR阻害薬の感受性レベルと有意に相関し、FGFR阻害薬の効果を予測するバイオマーカーとなりうる事が判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

繊維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）阻害薬は、新規分子標的治療薬として近年注目を集め、2019年以降、尿路上皮癌や胆道癌等に対して使用可能となってきた。しかし、大腸癌に対してFGFR阻害薬はまだ承認されておらず、その理由としてFGFR阻害薬が効果を示す大腸癌患者の抽出を可能とするバイオマーカーが未発見であることが挙げられる。本研究では、FGFR遺伝子とEGFR遺伝子の発現レベル比「F/E」がFGFR阻害薬の感受性と相関する事実を見出し、「F/E」が新規バイオマーカーとなりうる可能性を示した。これは、FGFR阻害薬の大腸癌への臨床応用が可能となる重要な結果であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we searched for biomarkers that would identify colorectal cancer patients who respond to FGFR inhibitors. We cultured cancer cells in a 3D environment using resected tumors and established colorectal cancer stem cell spheroids in colorectal cancer patients who underwent tumor resection at our institution. Using these spheroids, we found that approximately 28% of RAS/RAF wild-type colorectal cancers were sensitive to FGFR inhibitors. These results did not correlate with FGFR gene mutation, copy number, or expression level, indicating that it is difficult to predict sensitivity to FGFR inhibitors based on FGFR gene alterations alone. On the other hand, the ratio of the expression levels of the FGFR and EGFR genes, "F/E," was found to correlate significantly with the susceptibility levels of FGFR inhibitors, and this may be a biomarker for predicting FGFR inhibitor efficacy.

研究分野：大腸癌

キーワード：大腸癌 癌幹細胞 スフェロイド 繊維芽細胞増殖因子受容体阻害薬 FGFR阻害薬

1. 研究開始当初の背景

我が国において、大腸癌は現在、罹患数第1位の悪性腫瘍であり、その数は年々増加の一途を辿っている。治療の進歩によって予後は改善しつつあるが、切除不能進行再発症例の予後は未だ厳しく、新規治療の開発や、遺伝学的背景に基づいた個別化治療の実現は、世界的な課題とされている。

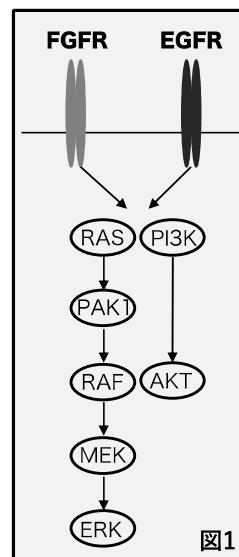
近年、新規分子標的治療薬として線維芽細胞増殖因子受容体 (FGFR) 阻害薬が注目を集めている。2019年以降、FGFR 阻害薬は、FGFR3 または FGFR2 遺伝子変異を有する尿路上皮癌、FGFR2 遺伝子転座を持つ胆道癌、FGFR1 融合遺伝子を有する血液がんに対し、米国 FDA で承認されている。しかしながら大腸癌に対しては、いまだ承認に至った FGFR 阻害薬はない。大腸癌においては、FGFR 阻害薬の効果を予測するバイオマーカーが明らかにされておらず、適格患者の選択が難しいことが、その理由と考えられる。

申請者は、大腸癌患者由来癌幹細胞スフェロイドを用い、FGFR 阻害薬の感受性株がどの程度存在するか、そして、それらの感受性予測を可能とする手法があるかどうか、検証する必要性を感じ、本研究を開始するに至った。

2. 研究の目的

FGFR は癌細胞表面に発現する膜タンパクで、FGF をリガンドとする。FGFR 下流のシグナル伝達経路 (MAPK pathway) は EGFR と共有されており、FGFR 阻害薬はこの経路を遮断することで細胞増殖を抑制できる。現在、RAS/RAF 野生型大腸癌に対しては、抗 EGFR 抗体薬が標準治療として利用されており、その効果に関するエビデンスは確立しているが、FGFR 阻害薬に関する報告は少なく、臨床応用にも至っていない。

本研究の目的は、FGFR 阻害薬の大腸癌への臨床応用を目指し、FGFR 阻害薬に感受性を有する大腸癌患者を層別化できるバイオマーカーを探索することである。



3. 研究の方法

大腸癌患者由来幹細胞スフェロイドを樹立し、それを利用して FGFR 阻害薬の感受性の有無を調べるとともに、感受性予測に有効な遺伝学的な特徴を解析する。本研究において使用した大腸癌幹細胞スフェロイドは、手術によって得られた臨床検体から樹立したものであり、その特徴として、

最短2週間程度・90%以上の成功率で樹立が可能であること

長期培養・凍結保存・薬剤感受性試験等への利用が容易に可能であること

腫瘍切片自体を用いるより精度の高いゲノム解析が可能であること

実臨床における5-FUやイリノテカン等の既存薬剤の感受性を反映すること

が挙げられる (Yamaura T, Yamamoto T et al. Oncotarget. 2018, Maekawa et al. Mol Cancer Ther. 2018)。

また先行研究において申請者は、FGFR 遺伝子の発現レベルは、FGFR 阻害薬の感受性と相関しないことをすでに明らかにしている (Yamamoto T, et al. Cancers 2020)。そこで本研究では、FGFR 遺伝子単独の発現レベルではなく、FGFR 遺伝子と EGFR 遺伝子の発現レベルの比を算出し、この値と感受性レベルの相関を確かめることとした。この検証は、以下のような仮説に基づいている。

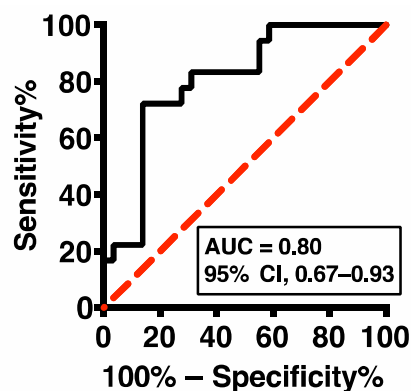
FGFR の下流のシグナル伝達経路は EGFR と共有しているため、FGFR 発現に比して EGFR 発現レベルが高い個体では、FGFR 阻害薬によって FGFR からの入力を阻害しても細胞増殖は効率的に抑制されない。一方、FGFR 発現レベルに比して相対的に EGFR 発現レベルが低い場合は、細胞増殖が FGFR からの入力に依存しており、FGFR 阻害薬が効果を示す可能性が高い。

以上から本研究では、FGFR1-4 の発現レベルの総和と EGFR の発現レベルの比を「F/E」と定義し、FGFR 阻害薬の感受性レベルとの関連性を検証した。

4. 研究成果

大腸癌患者由来幹細胞スフェロイド 47 株に対して F/E と FGFR 阻害薬感受性を比較検討したところ、前述の仮説通り、FGFR 阻害薬感受性株で F/E が高い傾向を示した。

また右図のように ROC 曲線を利用し、最も診断力の高い F/E のカットオフ値は 14 であることを明らかにした。このカットオフ値を用いることで、FGFR 阻害薬に効果を示す大腸癌スフェロイド株を高い診断力で抽出することが可能である (AUC=0.80, 95%CI=0.67-0.93)。この研究結果は、大腸患者において、「F/E」が FGFR 阻害薬の感受性診断を可能とするバイオマーカーとなりうる可能性を初めて示唆したものであり、この結果を論文・学会発表した。



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 Shoichi Kitano, Takehito Yamamoto, Makoto Mark Taketo | 4. 巻 113 |
| 2. 論文標題 A novel parameter for cancer chemosensitivity to FGFR inhibitors | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 4005-4010 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15523 | 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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 山本健人, 北野翔一, 武藤誠 |
| 2. 発表標題 大腸癌患者由来の癌幹細胞スフェロイドを用いたFGFR阻害薬感受性スクリーニング |
| 3. 学会等名 第26回日本がん分子標的治療学会学術集会 |
| 4. 発表年 2022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 |
|---------|---------|
|---------|---------|