

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592392

研究課題名(和文)メタボリック症候群と前立腺癌に關与するFGFの分子機構解明と新たな治療戦略確立

研究課題名(英文) Investigation of molecular mechanism of FGF family involved in prostate cancer and metabolic syndrome

研究代表者

亭島 淳 (Teishima, Jun)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・講師

研究者番号：20397962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺全摘除術により得られた前立腺癌組織においてFGF19、FGF21陽性群が、術後生化学的再発が有意に高く、Gleason scoreが高い症例が多く、FGF19、FGF21陽性がそれぞれ術後生化学的再発の独立した予測因子となりうる事が明らかとなった。LNCaP、PC3ではFGF19の添加によって細胞増殖の促進とEMTマーカー群の誘導が認められ、FGF19陽性群の組織ではEMTマーカーの高発現が認められた。血清FGF19/21濃度はメタボリック症候群と相関しており、また、FGF19濃度はGleason score8以上と関連していることが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：Serum FGF19/21 levels in high Gleason grade group was significantly higher than that in low Gleason grade group. In the immunostaining, the biochemical recurrence free survival rate in FGF19/21-positive group was lower than that in FGF21-negative group. Cell viability and the expression of EMT marker were significantly enhanced by treatment with FGF19/21 in LNCaP and PC3 cells. Our data indicate that FGF21 might be associated with biochemical recurrence by promoting cell proliferation of prostate cancer.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 増殖因子 上皮間葉移行 メタボリック症候群

## 1. 研究開始当初の背景

線維芽細胞成長因子(以下 FGF)ファミリーとその受容体(FGF receptor, 以下 FGFR)群は、そのシグナル伝達を介した上皮間質相互作用が正常前立腺組織の恒常性維持において重要な役割を果たしていることは広く知られており、また、前立腺癌の発生および進展において、FGF を介したシグナル伝達経路の異常が関与していることは数多く報告されてきた。当研究室(広島大学大学院医歯薬学総合研究科腎泌尿器科学)ではこれまでに、前立腺癌の発生と進展における FGF-FGFR の異常に注目し、去勢抵抗性前立腺癌細胞における FGF-FGFR シグナルの異常(Matsubara A, Breast Cancer 25:320,1999.) FGF7-FGFR2 シグナルの回復による増殖抑制効果(Fen S 57:5369,1997., Matsubara A, Cancer Res 58:1509,1998.) アポトーシス誘導効果(Yasumoto H, Prostate 61:236,2004.) 放射線感受性亢進(Matsubara A, Anticancer Res 28:2141,2008.) および前立腺癌細胞の増殖、浸潤における FGF9 の関与(Teishima J, Prostate Cancer Prostatic Dis, 2012) などについて報告、その研究成果より、前立腺癌の発生から進展に至る多くの過程において FGF-FGFR シグナルの異常が深く関与していると考えてきた。

前立腺癌の発生・進展において、メタボリック症候群の存在が深くかかわっていることが報告されているが(Wallner NP BJU Int 107:929,2011) その詳細な分子メカニズムについては明らかにされていなかった。FGF ファミリーのうち、FGF19 サブファミリーは FGF19、FGF21、FGF23 からなり、他の FGF ファミリーと異なり代謝調節因子としての作用が注目されており、さらに FGF19 はそのトランスジェニックマウスにおいて肝細胞癌が高率に発生すること、肝細

胞癌、肺癌、大腸癌において FGF19 と FGFR4 が共発現することなどから、悪性腫瘍との関連が強く示唆されているが、前立腺癌におけるその関与についての報告はなかった。

## 2. 研究の目的

本研究は以下の3点を解明することを目的として行った。1) FGF19 サブファミリーとその受容体および補助受容体のヒト前立腺癌組織での発現。2) FGF19 サブファミリーの血清濃度と、前立腺癌の有無と肥満や糖尿病などの代謝性疾患の有無との関係。3) 前立腺癌細胞株における FGF19 サブファミリーとその受容体および補助受容体の作用。

## 3. 研究の方法

### 1) ヒト前立腺癌組織における FGF19 サブファミリーおよび受容体、補助受容体の発現

前立腺全摘除術および前立腺針生検により得られた前立腺癌組織について FGF19、FGF21、FGF23、FGFR1-4、 $\alpha/\beta$ -Klotho に対する抗体を用いた免疫組織化学染色を行い、FGF19 サブファミリーおよび受容体、補助受容体の発現と再発、再燃の有無などの臨床経過や患者の基礎疾患の有無、病理組織学的所見との関連について検討した。

### 2) FGF19 サブファミリーの血清濃度の測定

前立腺針生検施行前に採取し凍結保存した患者血液検体において、FGF19、FGF21、FGF23 の血清濃度を ELISA 法を用いて測定し、生検結果、患者の基礎疾患の有無、臨床経過との関連について検討した。

### 3) 前立腺癌細胞株における FGF19 サブファミリーの機能解析

前立腺癌細胞株 LNCaP, DU145, PC3 について、FGF19、21、23 ならびに FGF9 を添加した状態での細胞増殖への影響を MTT assay で解析、さらにこれら FGF ファミリーの刺激により誘導される分子群についてウェスタンブロット法により解析した。

以上の実験結果を、canonical FGF である FGF9、さらに前立腺癌特異的に発現増強を認めるほかの分泌蛋白群を対象としても同様に行った結果とも比較検討した。

#### 4 . 研究成果

前立腺癌細胞株 LNCaP, PC3 では、FGF19、21 刺激では FGF9 で刺激した場合と同様に、細胞増殖能、細胞浸潤能の促進がみられた。FGF9 刺激により VEGF、MMP2 の発現誘導が認められたのに対し、FGF19、21 刺激ではこれらの分子群の発現誘導は明らかではなく、FGF19 刺激では EMT マーカーの誘導と、カスパーゼ 3 の発現低下が認められた。

前立腺全摘除術により得られた前立腺癌組織に対する免疫組織化学染色の結果、FGF19、FGF21 陽性群が、術後生化学的再発が有意に高く、Gleason score が高い症例が多く、FGF19、FGF21 陽性がそれぞれ術後生化学的再発の独立した予測因子となりうる事が明らかとなった。

FGF19 陽性群の組織では EMT マーカーの高発現が高頻度に認められた。

食事摂取などの条件を統一した状態で ELISA 法により血清 FGF19/21 濃度の測定を行った結果、血清 FGF19/21 濃度はメタボリック症候群と相関しており、また、FGF19 濃度は Gleason score 8 以上と関連していることが明らかとなった。これらの所見は / -Klotho の血清濃度および組織での発現とは関連せずに認められた。

#### 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8件)

Nagamatsu H, Teishima J, Goto K, Shikuma H, Kitano H, Shoji K, Inoue S, Matsubara A. FGF19 promotes progression of prostate cancer. Prostate, (査読有), 2015 Jul; 75(10): 1092-101.

Shoji K, Teishima J, Hayashi T, Ohara S, Mckeehan WL, Matsubara A. Restoration of fibroblast growth factor receptor 2IIIb enhances the chemosensitivity of human prostate cancer cells. Oncol Rep, (査読有), 2014 Jul; 32(1):65-70.

Teishima J, Yano S, Shoji K, Hayashi T, Goto K, Kitano H, Oka K, Nagamatsu H, Matsubara A. Accumulation of FGF9 in prostate cancer correlates with epithelial-to-mesenchymal transition and induction of VEGF-A expression. Anticancer Res, (査読有), 2014 Feb; 34(2): 695-700.

Seki M, Teishima J, Mochizuki H, Mutaguchi K, Yasumoto H, Oka K, Nagamatsu H, Shoji K, Matsubara A. Restoration of IGFBP-rP1 increases radiosensitivity and chemosensitivity in hormone-refractory human prostate cancer. Hiroshima J Med Sci, (査読有), 2013 Mar; 62(1): 13-9.

Teishima J, Maruyama S, Mochizuki H, Oka K, Ikeda K, Goto K, Nagamatsu H, Hieda K, Shoji K, Matsubara A. Prostate cancer

detection by prostate-specific antigen-based screening in the Japanese Hiroshima area shows early stage, low-grade, and low rate of cancer-specific death compared with clinical detection. Can Urol Assoc J, (査読有), 2014 May; 8(5-6): E327-32.

Oligophrenin-1 is associated with cell adhesion and migration in prostate cancer. Goto K, Oue N, Hayashi T, Shinmei S, Sakamoto N, Sentani K, Teishima J, Matsubara A, Yasui W. Pathobiology, (査読有), 2014; 81(4): 190-8.

Shinmei S, Sentani K, Hayashi T, Sakamoto N, Goto K, Zarni Oo H, Naito Y, Teishima J, Matsubara A, Oue N, Kuniyasu H, Yasui W. Identification of PRL1 as a novel diagnostic and therapeutic target for castration-resistant prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap (CAST) method. Urol Oncol, (査読有), 2014 Aug; 32(6): 769-78.

Hayashi T, Sentani K, Oue N, Ohara S, Teishima J, Anami K, Sakamoto N, Matsubara A, Yasui W. The search for secreted proteins in prostate cancer by the Escherichia coli ampicillin secretion trap: expression of NBL1 is highly restricted to the prostate and is related to cancer progression. Pathobiology, (査読有), 2013; 80(2): 60-9.

[学会発表](計 17件)

Jun Teishima, Koichi Shoji, Keisuke Goto, Ryoken Yamanaka, Hiroyuki Shikuma,

Hirotaka Nagamatsu, Shunsuke Shinmei, Hiroyuki Kitano, Shinya Ohara, Tetsutaro Hayashi, Norihide Oue, Wataru Yasui, Akio Matsubara. Regenerating islet-derived family, member 4 enhances cell proliferation, castration-resistance and chemoresistance through acceleration of neuroendocrine differentiation in human prostate cancer cells. 29th Annual EAU Congress, 2014.4.12, Stockholm (Sweden)

Koichi Shoji, Jun Teishima, Shinya Ohara, Akio Matsubara. Restoration of Fibroblast Growth Factor Receptor 2IIIB enhances the chemosensitivity of human prostate cancer cells. AUA Annual Meeting 2014, 2014.5.18, Orlando (USA)

Hirotaka Nagamatsu, Jun Teishima, Keisuke Goto, Akio Matsubara. FGF19 subfamily promotes progression in prostate cancer cells. AUA Annual Meeting 2014, 2014.5.18, Orlando (USA)

Jun Teishima, Koichi Shoji, Keisuke Goto, Ryoken Yamaoka, Hiroyuki Shikuma, Hirotaka Nagamatsu, Kiyotaka Oka, Shunsuke Shinmei, Hiroyuki Kitano, Shinya Ohara, Tetsutaro Hayashi, Norihide Oue, Wataru Yasui, Akio Matsubara. Regenerating islet-derived family, member 4 enhances cell proliferation, castration-resistance, and chemoresistance through acceleration of neuroendocrine differentiation in human prostate cancer cells. AUA Annual Meeting 2014, 2014.5.19, Orlando (USA)

亭島 淳、正路晃一、山中亮憲、後藤景介、永松弘孝、大原慎也、林哲太郎、岡清貴、大

上直秀、安井 弥、松原昭郎。去勢抵抗性前立腺癌における regIV の意義。第 73 回日本癌学会学術総会，2014.9.25，横浜。

永松弘孝、亭島 淳、後藤景介、松原昭郎。Endocrine FGFs promote progression in prostate cancer. 第 73 回日本癌学会学術総会，2014.9.25，横浜。

永松弘孝、亭島 淳、後藤景介、正路晃一、松原昭郎。FGF19 は前立線癌細胞の増殖を促進する。第 102 回日本泌尿器科学会総会，2014.4.25，神戸。

正路晃一、亭島 淳、大原慎也、松原昭郎。前立腺癌細胞における FGFR2 b の発現回復は化学療法感受性を増強する。第 102 回日本泌尿器科学会総会，2014.4.25，神戸。

亭島 淳、永松弘孝、北野弘之、後藤景介、岡清貴、正路晃一、大上直秀、安井弥、松原昭郎。前立腺癌における Reg の意義。第 102 回日本泌尿器科学会総会，2014.4.25，神戸。

Jun Teishima, Koichi Shoji, Keisuke Goto, Ryoken Yamaoka, Hiroyuki Shikuma, Hirotaka Nagamatsu, Kiyotaka Oka, Shunsuke Shinmei, Hiroyuki Kitano, Shinya Ohara, Tetsutaro Hayashi, Norihide Oue, Wataru Yasui, Akio Matsubara. The role of regenerating islet-derived family, member 4 in human castration-resistant prostate cancer cells. The 4th Congress of Asian Pacific Prostate Society (APPS2014), 2014.3.21, Okinawa.

Nagamatsu H, Teishima J, Goto K, Matsubara A. FGF19 subfamily promotes progression in prostate cancer. The 4th

Congress of Asian Pacific Prostate Society, 2014.3.21, Okinawa.

Jun Teishima, Shigeki Yano, Tetsutaro Hayashi, Koichi Shoji, Kiyotaka Oka, Hirotaka Nagamatsu, Shinya Ohara, and Akio Matsubara. Fibroblast growth factor 9 in prostate cancer cells is associated with postoperative recurrence through acceleration of mesenchymal transition, proliferation, and invasion. AUA 2013 Annual Meeting, 2013.5.4, San Diego (USA)

Jun Teishima, Shigeki Yano, Tetsutaro Hayashi, Koichi Shoji, Kiyotaka Oka, Hirotaka Nagamatsu, Shinya Ohara, and Akio Matsubara. Accumulation of Fibroblast growth factor 9 in prostate cancer cells correlate with epithelial-mesenchymal transition and the induction of VEGFA expression. 33<sup>rd</sup> Congress of the Societe internationale D'urologie(SIU2013), 2013.9.9, Vancouver (Canada)

Koichi Shoji, Jun Teishima, Shinya Ohara, Akio Matsubara. Restoration of Fibroblast Growth Factor Receptor 2 b Enhances the Chemosensitivity of Human Castration Resistant Prostate Cancer Cells. 33<sup>rd</sup> Congress of the Societe internationale D'urologie(SIU2013), 2013.9.9, Vancouver (Canada)

亭島 淳、林哲太郎、正路晃一、岡清貴、永松弘孝、後藤景介、神明俊輔、松原昭郎。前立腺癌細胞における FGF9 の集積は上皮間葉移行および VEGFA の誘導に関与する。第 72 回日本癌学会学術総会，2013.10.5，横浜。

正路晃一、亭島 淳、大原慎也、松原昭郎。

前立腺癌細胞における FGF2 b の発現回復は  
化学療法感受性を増強する．第 72 回日本癌  
学会学術総会，2013.10.5，横浜．

永松弘孝、亭島 淳、正路晃一、後藤景介、  
岡清貴、神明俊輔、松原昭郎．FGF19 は前立  
腺癌細胞の増殖を促進する．第 72 回日本癌  
学会学術総会，2013.10.5，横浜．

〔その他〕

ホームページ：

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/urology/>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

亭島 淳 (TEISHIMA JUN)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・講  
師

研究者番号：20397962

### (2)研究分担者

松原 昭郎 (MATSUBARA AKIO)

広島大学・大学院医歯薬保健学研究院・教  
授

研究者番号：10239064

井上 省吾 (INOUE SHOGO)

広島大学・病院・助教

研究者番号：90457177

正路 晃一 (SHOJI KOICHI)

広島大学・病院・助教

研究者番号：90565805