

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791435

研究課題名(和文)膵癌、胆道癌に高発現するFOX M1を標的とした分子標的治療の開発

研究課題名(英文) Identification of FOXM1, as a possible target for a novel molecular targeting therapy of pancreatic and biliary cancers.

研究代表者

生田 義明 (IKUTA, Yoshiaki)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：70452894

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：胆管癌患者、膵癌患者の血清遊離FOX M1蛋白の測定を行ったが、正常成人と比較して有意差を認めなかった。また、癌の進行度と血中FOX M1の相関も認めなかった。胆管癌切除組織を対象としたFOX M1免疫組織学的染色では、癌細胞におけるFOX M1は高率に発現を認めた。FOX M1発現度、癌の進行度と生存率に有意差は認めなかった。FOX M1高発現ヒト癌細胞株にFOX M1抗体を添加し、細胞の形態や浸潤能、増殖能の変化を観察したが、明らかな変化を認めなかった。以上より、FOX M1の胆管癌、膵癌における高発現は確認できたものの、診断や治療への有用性は確立できなかった。

研究成果の概要(英文)：Although serum free FOXM1 protein was measured, the concentration of FOXM1 was not significantly different from that of normal controls. There was no correlation between serum free FOXM1 and staging of cancer. Immunohistochemical study of FOXM1 revealed that the expressions of FOXM1 in cancer cells were observed at a high rate. However, there was no correlation between the expression level of FOXM1 and staging of cancer. We added anti-FOXM1 antibody to human cancer cell lines which express FOXM1 highly. However, these cells did not express any morphological or invasive change. These findings could not suggest that FOXM1 is a potentially useful target candidate for cancer diagnosis and therapy.

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：FOX M1 胆管癌 膵癌 分子標的治療

1. 研究開始当初の背景

申請者は、cDNA マイクロアレイ解析を利用した 27,648 種のヒト遺伝子を含むゲノムワイドの遺伝子発現解析によって、肝内胆管癌に高発現する新たな腫瘍関連抗原 Forkheadbox m1(FOXM1) を同定した。FOXM1 は、胆管細胞癌患者 24 例中 24 例で、正常胆管組織と比較して癌組織において 5 倍以上 (平均 10 万倍) の高発現を認めた。

また、FOXM1 遺伝子は、小腸、大腸、骨髄、胸腺、精巣などに軽度の発現を認めたが、癌部と比較し、いずれもかなり低い発現であった。トランスジェニックマウス (Tgm) を用いた HLA 拘束性 CTL エピトープペプチドの同定を行い、さらにそれらを用いた癌免疫療法の有用性について報告した。(Yokomine et al, Int J Cancer, 2010)。FOXM1 は肝内胆管癌のみならず、膵癌、膀胱癌および肺小細胞癌にも高発現していた。FOXM1 は様々な癌の診断、予後予測および分子標的療法のターゲットとして有望な候補と考えられた。

2. 研究の目的

われわれが、胆管細胞癌患者のマイクロアレイ解析より着目した FOXM1 は、細胞の増殖や分化に重要な役割を持っており、様々な増殖因子・増殖抑制因子の調節などに関与している。さまざまな腫瘍で高発現することが報告されている (Wang et al, Cancer Treat Rev, 2010)。最近では、膵癌細胞株の FOXM1 発現を down regulation することで、細胞の浸潤能が低下するとの報告 (Wang et al, Cancer Res, 2007) や、FOXM1 の発現が乳癌や胃癌の予後因子となるとの報告 (Bektas et al., BMC Cancer, 2008) (Li et al., Cancer Res, 2009) もあり、これらの報告は、FOXM1 がヒトの癌の発生と進行に重要な役割を持っていることを示唆している。以上のことから、FOXM1 は様々な癌の分子標的治療において有効な標的となりうる可能性があると考えられる。

我国における胆道癌(胆嚢癌と胆管癌)および膵臓癌の死亡者数は増加傾向にあり、2009 年にはそれぞれ 17,599 人および 26,791 人が死亡している。これらの癌は多くの場合、初期には自覚症状が見られず、早期発見が難しく、初診時に既に切除不能であることが多い。特に、膵臓癌の約 40% は遠隔転移を有する進行例であり、5 年生存率は 5% 以下と、予後が極めて不良である。現在、外科的切除を中心として集学的治療が行われているが、劇的な治療効果の改善なく、新たな治療戦略の確立が急務である。

これらの予後不良な胆道癌、膵癌に高発現する FOXM1 を標的とした診断や治療法が確立できれば、臨床意義は極めて大きいと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 胆管癌および膵癌患者における FOXM1 発現の検討

胆管癌および膵癌患者の血清、手術時の術中洗浄腹水および摘出標本の癌部、非癌部における FOXM1 蛋白や mRNA の発現を測定し、これらの癌患者における FOXM1 の発現について明らかにする。

FOXM1 蛋白の測定は、抗ヒト FOXM1 抗体をもちいた ELISA 法および Western blot 法にて検討し、mRNA の発現は RT-PCR にて検討する。

(2) 胆管癌および膵癌患者の切除組織における FOXM1 蛋白の発現の検討

胆管癌患者および膵癌患者の摘出標本における病理組織学的検査にて、FOXM1 蛋白の発現を検討し、癌の浸潤転移の程度や、予後因子との相関を検討する。

(3) FOXM1 を標的とした分子標的治療の可能性についての検討

FOXM1 が、癌の浸潤転移や予後に関与しているデータが得られた場合、in vitro で、FOXM1 を高発現する細胞株に対して抗 FOXM1 抗体を添加し、その細胞の状態の変化、細胞増殖能、浸潤能を観察する。次に、実際にマウスに腫瘍を移植し、抗 FOXM1 抗体による腫瘍抑制効果について検討する。

4. 研究成果

(1) 胆管癌および膵癌患者における FOXM1 発現の検討

各 20 例の胆管癌患者、膵癌患者および正常成人コントロールの血清を対象とし、ELISA 法による血清遊離 FOXM1 蛋白の測定を行った。正常成人と比較して有意な差を認めなかった。また、癌の進行度と血清中 FOXM1 蛋白値の関連も検索したが、明らかな相関は認めなかった。

(2) 胆管癌および膵癌患者の切除組織における FOXM1 蛋白の発現の検討

20 例の胆管癌切除組織を対象として、抗ヒト FOXM1 抗体を用いた FOXM1 の免疫組織学的染色を行い、各症例の癌細胞および周囲の正常胆管細胞の FOXM1 蛋白の発現を検討した。癌細胞における FOXM1 の発現の程度は、高発現している症例から発現の弱い症例ま

でさまざまであったがほとんどの症例でFOXMIの発現を認めた。

FOXMI発現を高発現群と低発現群に分け、癌の進行度、生存率を比較したが、有意差は認めなかった。

(3) FOXMI を標的とした分子標的治療の可能性についての検討

胆管癌細胞株HuCCT1や膵癌細胞株Panc1などを含むヒト癌細胞株におけるFOXMIの高発現をRT-PCRにて確認した。

これらのFOXMI高発現株にFOXMI抗体を添加し、細胞の形態や浸潤能、増殖能の変化を観察したが、明らかな変化を認めなかった。

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10件)

Ikuta Y, Chikamoto A, Hayashida S, Hashimoto D, Eto T, Beppu T, Asonuma T, Inomata Y, Baba H: Cancer of the head of the pancreas treated with pancreaticoduodenectomy with reconstruction of the replaced common hepatic artery. *Int Canc Conf J*.2014. 査読有

URL:<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13691-014-0159-5>

Hayashi H, Beppu T, Masuda T, Okabe H, Imai K, Hashimoto D, Ikuta Y, Chikamoto A, Watanabe M, Baba H: Large splenic volume may be a useful predictor for partial splenic embolization-induced liver functional improvement in cirrhotic patients. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*. 2014 Jan;21(1):51-7. 査読有
DOI: 10.1002/jhbp.1.

Chikamoto A, Hashimoto D, Ikuta Y, Tsuji A, Abe S, Hayashi H, Imai K, Nitta H, Ishiko T, Watanabe M, Beppu T, Baba H: Effects of the closing speed of stapler jaws on bovine pancreases. *Surg Endosc*. 2014 Jan;28(1):336-40. 査読有

Ikuta Y, Takamori H, Sakamoto Y, Hashimoto D, Chikamoto A, Kuroki H, Sakata K, Sakamoto K, Hayashi H, Imai K, Nitta H, Hirota M, Kanemitsu K, Beppu T, Baba H: The modified Glasgow Prognostic Score (mGPS) is a good predictor of indication for palliative bypass surgery in patients with unresectable pancreatic and biliary cancers. *Int J Clin Oncol*. 2013 Sep 3. [Epub ahead of print] 査読有
URL:<http://link.springer.com/article/10>

.1007%2Fs10147-013-0613-y

Ozaki N, Ohmuraya M, Ida S, Hashimoto D, Ikuta Y, Chikamoto A, Hirota M, Baba H: Serine protease inhibitor Kazal type 1 and epidermal growth factor receptor are expressed in pancreatic tubular adenocarcinoma, intraductal papillary mucinous neoplasm, and pancreatic intraepithelial neoplasia.

J Hepatobiliary Pancreat Sci. 2013. [Epub ahead of print] 査読有

URL:<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00534-012-0587-6>

DOI: 10.1007/s00464-013-3157-3.

Nishimura C, Naoe H, Hashigo S, Tsutsumi H, Ishii S, Konoe T, Watanabe T, Shono T, Sakurai K, Takaishi K, Ikuta Y, Chikamoto A, Tanaka M, Iyama K, Baba H, Katabuchi H, Sasaki Y: Pancreatic metastasis from mixed adenoneuroendocrine carcinoma of the uterine cervix: a case report. *Case Rep Oncol*. 2013 May 9;6(2):256-62. 査読有
DOI: 10.1159/000351308.

Horino K, Beppu T, Kuroki H, Mima K, Okabe H, Nakahara O, Ikuta Y, Chikamoto A, Ishiko T, Takamori H, Baba H: Glasgow Prognostic Score as a useful prognostic factor after hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol*. 2013 Oct;18(5):829-38. 査読有
DOI: 10.1007/s10147-012-0451-3.

Horino K, Takamori H, Ikuta Y, Nakahara O, Chikamoto A, Ishiko T, Bappu T, Baba H: Cutaneous metastases secondary to pancreatic cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2012 15;4(7):176-180. 査読有
DOI:10.4251/wjgo.v4.i7.176

Nakahara O, Takamori H, Ikeda O, Kuroki H, Ikuta Y, Chikamoto A, Beppu T, Yamashita Y, Baba H: Risk factors associated with delayed haemorrhage after pancreatic resection. *HPB (Oxford)*. 2012;14(10):684-7. 査読有
DOI: 10.1111/j.1477-2574.2012.00518.x.

中村健一、高森啓史、中原修、生田義明、黒木秀幸、中川茂樹、美馬浩介、岡部弘尚、新田英利、今井克憲、近本亮、土居浩一、石河隆敏、別府透、猪山賢一、馬場秀夫:「播種性骨髄癌を呈した膵尾部癌の1例」, 癌と化学療法 2012 39(8):1275-1277、査読有
URL:<http://www.pieronline.jp/content/article/0385-0684/39080/1275>

[学会発表](計8件)

生田義明、「切除非適応膵癌に対するGC療法」, 第44回日本膵臓学会、2013年7月25日、仙台国際センター

生田義明、「IPMNに対すり至適術式の検討」, 第68回日本消化器外科学会、2013年7月17日、サンホテルフェニックス(宮崎県)

生田義明、「膵疾患の治療方針決定における FDG-PET の有用性」、第 25 回日本肝胆膵外科学会、2013 年 6 月 12 日、ホテル東日本宇都宮（栃木県）

生田義明、「当科における膵神経内分泌腫瘍症例の検討」、第 113 回日本外科学会、2013 年 4 月 12 日、マリンメッセ福岡

生田義明、「当院における腹腔鏡下膵体尾部切除術の検討」、第 4 回膵臓内視鏡外科学会、2012 年 11 月 27 日、京王プラザホテル（東京都）

生田義明、「切除不能膵胆道癌に対する消化管バイパス手術の予後予測因子（modified Glasgow Prognostic Score (mGPS) の有用性）」、Japan Digestive Disease Week (JDDW2012)、2012 年 10 月 11 日、神戸国際展示場

生田義明、「IPMN に対する縮小手術についての検討」、第 67 回日本消化器外科学会、2012 年 7 月 19 日、富山国際会議場

生田義明、「進行膵癌に対して姑息的バイパス術を施行する際の予後因子としての mGPS の有用性」、第 43 回日本膵臓学会、2012 年 6 月 29 日、ホテルメトロポリタン山形

〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

生田 義明 (IKUTA, Yoshiaki)

熊本大学・医学部附属病院・非常勤診療医師

研究者番号：70452894