

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 9 月 11 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461969

研究課題名(和文)細胞周期制御因子FBXW7を利用したGIST細胞の治療抵抗性克服を目指して

研究課題名(英文) Experimental trial to improve the treatment-resistance of GIST by using cell cycle regulating factor FBXW7

研究代表者

緒方 杏一 (Ogata, Kyoichi)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10448897

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：手術検体からのGIST細胞株樹立については、monoclonalな安定した細胞株の樹立に至らなかった。当科および関連施設においてGIST234例のデータベースを作成、うち97症例についてFBXW7の免疫染色を行った。FBXW7はGIST腫瘍部にて全例で発現し、高発現群で予後不良であった。更なるGIST臨床検体および臨床データの集積を行っている。臨床データにつき学会、シンポジウム等で発表した。

in vitroでは、GIST-T1細胞株を用いてFBXW7の抑制実験を施行した。siRNA、shRNAによる抑制ではタンパクの抑制が困難でありCrispr/Cas9法にてFBXW7の抑制実験を進めている。

研究成果の概要(英文)：About the GIST cell line establishment from a surgical specimen, it did not lead to the establishment of the stable cell line which was monoclonal. Our department and affiliated hospitals have been creating the database and we have already collected 234 GIST cases. We immunostained FBXW7 and examined 97 cases of those. FBXW7 was found in all cases in a tumor tissue and it tended to be the poor prognosis in high expression group. Currently, we are collecting more GIST specimens and clinical data. We have presented about clinical data at academic meetings and symposium.

About in vitro examination, a restraint experiment of FBXW7 was conducted by using GIST-T1 cell line. We did not confirm the restraint of protein by siRNA and shRNA. It is difficult to control with the common methods and we are pushing forward a restraint experiment of FBXW7 by the Crispr/Cas9 method currently.

研究分野：消化器外科

キーワード：GIST イマチニブ FBXW7

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍は癌幹細胞から分化、増殖した腫瘍細胞が大部分を占めており、その増殖細胞は細胞周期が亢進しており既存の抗癌剤に感受性が高いと考えられている。しかし、癌幹細胞は細胞周期が静止期 (G0 期) に存在するため抗癌剤、放射線治療などの既存の癌治療に抵抗性を示すと考えられており、癌幹細胞の細胞周期を制御することで薬剤感受性、放射線感受性を高めることができるのではと期待されている。最近、白血病幹細胞の細胞周期を制御することで白血病幹細胞を根絶する新たな治療戦略が報告された (Takeishi and Nakayama et al. Cancer Cell 2013)。その報告の中で細胞周期制御因子 FBXW7 を欠損させた白血病幹細胞は細胞周期が亢進し、慢性骨髄性白血病の分子標的治療薬であるイマチニブへの感受性が亢進することが示された。イマチニブは白血病以外にも KIT (CD117) 陽性消化管間質腫瘍 (gastrointestinal stromal tumor ; GIST) にも適応となっている。再発した GIST は既存の抗癌剤、放射線治療に抵抗性をしめすが、イマチニブを用いた分子標的治療は非常に有効である。しかし 2 年以内に約半数の患者がイマチニブ耐性を示すことも報告されており、その耐性メカニズムの解明、克服が実臨床において求められている。われわれは以前胃癌、食道癌、大腸癌における FBXW7 の発現意義、発現制御メカニズム、機能解析に関する報告をしている (Yokobori, Kuwano, and Mori et al. Cancer Research 2009, Int. J. Oncol 2012) (Iwatsuki, Yokobori, and Mori et al, Int. J. Cancer 2010)。しかし静止期にとどまる

GIST 細胞の細胞周期を制御することで既存の悪性腫瘍治療ツール (イマチニブ、抗癌剤、放射線) の感受性を亢進させる治療戦略が慢性骨髄性白血病と同様に GIST に対して有望であるかはさらなる検討が必要と考えられる。

### 2. 研究の目的

イマチニブが適応となる GIST において FBXW7 による細胞周期制御が治療感受性を高めるかどうかを臨床的、基礎的に検討するのが今回の研究目的である。

### 3. 研究の方法

本研究では臨床検体 (GIST 切除検体) における FBXW7 発現の臨床的意義を検討するとともに、GIST 細胞株を用いて FBXW7 発現制御による細胞周期の変化がイマチニブ、既存の抗癌剤、放射線治療感受性に与える影響を *in vitro*, *in vivo* において検討した。

### 4. 研究成果

手術検体からの GIST 細胞株樹立については、monoclonal な安定した細胞株の樹立に至らなかった。

当科および関連施設において GIST234 例のデータベースを作成しているが、そのうち 97 症例について FBXW7 の免疫染色を行い検討した。FBXW7 は GIST 腫瘍部にて全例で発現をみとめ、高発現群で予後不良の傾向をみとめた。現在、更なる GIST 臨床検体および臨床データの集積を行っている。臨床データにつき学会、シンポジウム等で発表した。

*in vitro* の実験では、GIST-T1 細胞株を用いて FBXW7 の抑制実験を施行した。siRNA、shRNA による抑制ではタンパクの抑制を確認できなかった。通常の方法での抑制が困難であり Crispr/Cas9 法にて FBXW7 の抑制実験を進めている。

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)

【論文】

Ogata K, Mochiki E, Ojima H, Haga N, Fukuchi M, Aihara R, Ando H, Uchida N, Toyomasu Y, Suzuki M, Kimura A, Kogure N, Yokobori T, Ohno T, Kuwano H. A multicenter long-term study of imatinib treatment for Japanese patients with unresectable or recurrent gastrointestinal stromal tumors. Journal of Surgical Oncology 2014 Dec;110(8):942-6.

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Kyoichi Ogata, Hiroyuki Kuwano  
GREAT study (Gunma GIST Research Evaluation Analysis Treatment Study)  
Oral presentation  
Global ReGISTry NETwork April 8, 2017  
Osaka(査読あり)

〔学会発表〕(計 6 件)

1. 緒方杏一、生方泰成、高橋研吾、鈴木雅貴、矢野間透、木暮憲道、木村明春、矢内充洋、岩松清人、桑野博行  
再発・転移 GIST に対するイマチニブ長期投与の工夫とその成績  
- 多施設 GIST 集積研究から -  
口演  
第 50 回制癌剤適応研究会 2017 年 3 月 17 日 徳島
2. 緒方杏一、栗山健吾、鈴木雅貴、矢野間透、木暮憲道、木村明春、矢内充洋、桑野博行  
再発・転移 GIST に対するイマチニブ使用の長期成績  
- 多施設 GIST 集積研究から -  
ワークショップ  
第 13 回日本消化管学会総会 2017 年 2

月 18 日 名古屋

3. 緒方杏一、栗山健吾、鈴木雅貴、矢野間透、木暮憲道、木村明春、矢内充洋、桑野博行:  
ミニシンポジウム「GIST : GIST に対する分子標的薬治療」  
再発・転移 GIST に対しイマチニブを使用した 41 例の長期成績 - 多施設 GIST 集積研究から - .  
第 54 回日本癌治療学会学術集会 平成 28 年 10 月 20-22 日 横浜

4. 緒方杏一、豊増嘉高、鈴木雅貴、木暮憲道、木村明春、持木彫人、桑野博行:  
パネルディスカッション 8「再発 GIST 治療の個別化へ向けて (症例検討)」  
再発・転移 GIST に対しイマチニブを使用した 41 例の長期成績 - 多施設 GIST 集積研究から - .  
第 70 回日本消化器外科学会総会 平成 27 年 7 月 15-17 日 浜松

5. 緒方杏一、豊増嘉高、鈴木雅貴、木暮憲道、木村明春、持木彫人、浅尾高行、桑野博行:  
コアシンポジウム 1「消化管悪性腫瘍の診断と治療戦略:GIST と消化管 NET の概念と治療の新展開」  
GIST 集積研究: 234 例の検討 - イマチニブ投与の 41 例に注目して - .  
第 10 回日本消化管学会総会学術集会 平成 26 年 2 月 14-15 日 福島

6. 研究組織

(1)研究代表者

緒方 杏一 ( Ogata, Kyoichi )

研究者番号:

10448897

群馬大学医学部附属病院 助教

(2)研究分担者

矢内 充洋 (Yanai,Mitsuhiro)  
群馬大学医学部附属病院 医員

研究者番号：60646793

宮崎 達也 (Miyazai,Tatsuya)  
群馬大学医学部附属病院 講師

研究者番号：70372349

桑野 博行 (Hiroyuki,Kuwano)  
群馬大学医学部附属病院 教授

研究者番号：90186560

(3)連携研究者

( )

研究者番号：

(4)研究協力者

( )