

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 5 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26860537

研究課題名(和文)胆道がんにおける線維芽細胞増殖因子受容体融合遺伝子は治療標的となるか？

研究課題名(英文)Is FGFR2 fusion real target for bile tract cancer patients?

## 研究代表者

近藤 俊輔 (Shunsuke, Kondo)

国立研究開発法人国立がん研究センター・その他部局等・研究員

研究者番号：90546201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：胆道がん細胞株とFGFR2-BICC1融合遺伝子の強制発現株を作成した。FGFR阻害剤による脱リン酸化の確認を免疫沈降法およびWBで確認した。FGFR2融合遺伝子の強制発現株における生物学的な明確な変化を認めず、FGFR阻害剤による抗腫瘍効果の予測は容易ではないものと判断された。そこで、我々は国立がん研究センターの病理検体から胆道がん細胞株の樹立による胆道がんencyclopediaの作成を実施中である。同時にヒト検体から次世代シーケンサーを用いたFGFR遺伝子変異およびFGFR2融合遺伝子の検出と臨床試験内でのFGFR阻害剤の投与を実施している。

研究成果の概要(英文)：In vitro assay using with cell lines of bile tract cancer, we conducted the stable of overexpression with FGFR2 fusion (FGFR2-AHCYL1& FGFR2-BICC1). We validated dephosphorylation of the stable cell lines. On the other hands, several biological changes were not observed between overexpression model and endogenous cell lines. Therefore, we have challenged established cell lines from the surgical specimens. In parallel, we have detected FGFR gene mutations and FGFR fusion genes using next generation sequencer. The clinical project, TOP-GEAR project, has been on going that screening of genomic profiles and matching target therapies.

研究分野：Gastroenterology

キーワード：胆道がん FGFR 融合遺伝子 分子標的治療

## 1. 研究開始当初の背景

難治がんである胆道がんは本邦における悪性腫瘍の死亡原因の第6位である。罹患率の国際比較では日本人は他の東アジアや欧米人に比較し高い傾向にある。さらに、近年、印刷業務に従事した労働者が高頻度で胆道がんを発症した事例が報告され、職業性胆道がんは本邦において重要な問題となっている。

胆道がんはその死亡率の高さから新規治療薬の開発が望まれている。現在の標準治療法であるシスプラチンとゲムシタピン併用療法の有効性を検証した第3相臨床試験(ABC study)が英国において実施された(Valle et al. NEJM 2010)。しかしながら、本邦から有効性を証明した標準治療の確立したことがないだけでなく、現在も新たな治療の確立が期待できるような臨床試験が実施されているとは言い難い。このような状況で、他の先進国に比較し罹患者の多い胆道がんの治療を大きく前進させるために、早期臨床開発を行うことは重要であり、さらに、この早期臨床開発を本邦において実施するための前臨床研究を実施することは重要である。

FGF および FGFR は細胞の分化、増殖、遊走あるいは生存などに広く関与することが知られている。FGFR はチロシンキナーゼ型受容体であり、FGFR1、2、3 および 4 のサブタイプに分類される。FGF の結合により FGFR は一時的に活性化され、細胞増殖シグナルを伝達する。がん細胞においては、FGF あるいは FGFR 遺伝子の増幅や FGFR 遺伝子の点変異あるいは融合変異が生じることにより FGFR キナーゼが恒常的に活性化し、細胞増殖が誘導されることが報告されている(Williams et al. Hum Mol Genet 2013)。

申請者の所属する独立行政法人国立がん研究センター早期探索・臨床研究センターから胆道がんにおいて FGFR2 の融合遺伝子

である FGFR2-AHCL1 および FGFR2-BICC1 が同定された。特に、胆道がんのうち、肝内胆管癌で頻度が高く 13.6% (9/66) でみられ、この融合遺伝子の存在下においては Mitogen-activated Protein Kinase (MAPK) シグナル経路の活性化されることが見いだされた。また、融合遺伝子を有する胆道がんに対して FGFR の阻害が有用である可能性を報告した (Arai, et al. Hepatology 2013)。また、同時に Wu らにより胆道がんにおける FGFR2-BICC1 融合遺伝子が報告されている (Wu, et al. Cancer discovery 2013)。

進行胆道がんに対する治療標的として FGFR2 をはじめとする分子の阻害を行うことが治療開発において注目が高まっており、FGFR2 融合遺伝子を有する胆道がん患者に対する POC 試験(第 I・II 相臨床試験)へとつながる前臨床研究は極めて重要である。

## 2. 研究の目的

胆道がん細胞株への FGFR2 融合遺伝子導入し、融合遺伝子による生物学的な変化を検証する。また、新規標的治療薬によるトランスフェクタンのシグナル抑制と細胞毒性の評価、外科切除検体を用いた融合遺伝子の検出と臨床病理学的相関についての検証を行い FGFR 阻害剤の早期臨床開発における診断法と第 I 相臨床試験にて候補となる薬剤の選別を行うものである。

## 3. 研究の方法

FGFR2 融合遺伝子を有する胆道がんに対する FGFR 阻害剤を臨床応用へと展開するために、本研究計画では以下の項目を予定している。

胆道がん細胞株への FGFR2 の融合遺伝子導入によるトランスフェクタンとの作成と融合遺伝子の導入による生物学的な変化の解明。

新規標的治療薬によるトランスフェクタンのシグナル抑制と細胞毒性の評価。

外科切除病理組織検体を用いた融合遺伝子の検出と臨床病理学的相関についての検証。

独立行政法人国立がん研究センター早期探索・臨床研究センターで実施しているFGFRの第I相臨床試験に参加が可能な胆道がん患者に対して FISH 法による融合遺伝子のスクリーニングを遺伝子プロファイル研究の範疇で行い登録する。

#### 4 . 研究成果

胆道がん細胞株である HuCCT1、HuH28、OZ の *FGFR2-AHCL1* と *FGFR2-BICC1* 融合遺伝子の強制発現株を作成した。FGFR 阻害剤 (BGJ398、AZD4547、LY2874455) による脱リン酸化の確認を免疫沈降法および WB で確認した。FGFR2 融合遺伝子による細胞株の invasion および migration 能の亢進は認めず、さらに、増殖アッセイにおいても同様の結果であった。そのため、強制発現株による生物学的な変化および FGFR 阻害剤による抗腫瘍効果の予測は容易ではないものと判断された。そこで、我々は国立がん研究センターの病理検体から胆道がん細胞株の樹立による胆道がん encyclopedia の作成を実施中である。同時にヒト検体から次世代シーケンサーを用いた FGFR 遺伝子変異および FGFR 2 融合遺伝子の検出と臨床試験内での FGFR 阻害剤の投与を実施している。

In vitro assay using with cell lines of bile tract cancer, we conducted the stable of overexpression with FGFR2 fusion (*FGFR2-AHCL1* & *FGFR2-BICC1*). We validated dephosphorylation of the stable cell lines. On the other hands, several biological changes were not observed between overexpression model

and endogenous cell lines. Therefore, we have challenged established cell lines from the surgical specimens. In parallel, we have detected FGFR gene mutations and FGFR fusion genes using next generation sequencer. The clinical project, "TOP-GEAR project", has been on going that screening of genomic profiles and matching target therapies.

#### 5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計9件)

1. Okuma HS, Kondo S. Trends in the development of MET inhibitors for hepatocellular carcinoma. *Future Oncol*. 2016 May;12(10):1275-86.
2. Mitsunaga S, Ikeda M, Shimizu S, Ohno I, Takahashi H, Okuyama H, Ueno H, Morizane C, Kondo S, Sakamoto Y, Okusaka T, Ochiai A.: C-Reactive Protein Level Is an Indicator of the Aggressiveness of Advanced Pancreatic Cancer. *Pancreas*. 2015 Nov 12. 2.
3. Shimomura A, Fujiwara Y, Kondo S, Kodaira M, Iwasa S, Kitano S, Tanabe Y, Tamura K, Yamamoto N: Tremelimumab-associated tumor regression following after initial progression: two case reports. *Immunotherapy*. 2015 Oct 2. 3.
4. Kondo S, Shiba S, Udagawa R, Ryushima Y, Yano M, Uehara T, Asanabe M, Tamura K, Hashimoto J. Assessment of adverse events via a telephone consultation service for cancer patients receiving ambulatory chemotherapy. *BMC Res Notes*. 2015 Jul 26;8:315. 4.
5. Ito A, Kondo S, Tada K, Kitano S. Clinical Development of Immune Checkpoint Inhibitors. *Biomed Res Int*.

2015;2015:605478. 5.

6. Okusaka T, Ueno H, Morizane C, Kondo S, Sakamoto Y, Takahashi H, Ohno I, Shimizu S, Mitsunaga S, Ikeda M. Cytotoxic chemotherapy for pancreatic neuroendocrine tumors. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2015 Aug;22(8):628-33. 6.

7. Ikeda M, Okuyama H, Takahashi H, Ohno I, Shimizu S, Mitsunaga S, Kondo S, Morizane C, Ueno H, Okusaka T. Chemotherapy for advanced poorly differentiated pancreatic neuroendocrine carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2015 Aug;22(8):623-7. 7.

8. Takahashi H, Ikeda M, Kumada T, Osaki Y, Kondo S, Kusumoto S, Ohkawa K, Nadano S, Furuse J, Kudo M, Ito K, Yokoyama M, Okusaka T, Shimoyama M, Mizokami M. Multicenter cooperative case survey of hepatitis B virus reactivation by chemotherapeutic agents. *Hepatol Res.* 2015 Jan 27. 8.

9. Okita K, Izumi N, Ikeda K, Osaki Y, Numata K, Ikeda M, Kokudo N, Imanaka K, Nishiguchi S, Kondo S, Nishigaki Y, Shiomi S, Ueshima K, Isoda N, Karino Y, Kudo M, Tanaka K, Kaneko S, Moriwaki H, Makuuchi M, Okusaka T, Hayashi N, Ohashi Y, Kumada H; Peretinoin Study Group. Survey of survival among patients with hepatitis C virus-related hepatocellular carcinoma treated with peretinoin, an acyclic retinoid, after the completion of a randomized, placebo-controlled trial. *J Gastroenterol.* 2015 Jun;50(6):667-74. 9.

〔学会発表〕(計1件)

1. Clinical impact of a pre-screening

system using comprehensive genomic profiling to guide phase I trial registry in patients with advanced solid tumors  
学会名 : Asia Congress of the European-Society-for-Medical-Oncology (ESMO), Volume: 26

発表年月日 : 2015年12月21日

発表場所 : シンガポール

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等 (計0件)

## 6. 研究組織

研究代表者 : 近藤 俊輔 (Shunsuke Kondo)

所属 : 国立がん研究センター中央病院

部局名・職名 : 早期・探索臨床研究センタ

ー 医員

研究者番号 : 90546201