



Title	The combination of gemcitabine plus an anti-FGFR inhibitor can have a synergistic antitumor effect on FGF-activating cholangiocarcinoma
Author(s)	伊藤, 善郎
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101816
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	伊藤 善郎
論文題名 Title	The combination of gemcitabine plus an anti-FGFR inhibitor can have a synergistic antitumor effect on FGF-activating cholangiocarcinoma (FGF経路活性胆管癌に対してゲムシタビンとFGFR阻害剤の併用投与は相乗的抗腫瘍効果を得る)
論文内容の要旨	
〔目的〕	
<p>胆管癌は根治切除施行後も高率に再発し、その治療成績は不良である。切除不能胆管癌に対する治療は限られていたが、肝内胆管癌に比較的高頻度（10-16%）に認められる遺伝子変異、Fibroblast Growth Factor Receptor (FGFR)2融合遺伝子変異に対するFGFR阻害剤が開発された。FGFR融合遺伝子変異はFGF経路を恒常的に活性化させるため、増殖や抗腫瘍効率を誘導する可能性があるが、FGFR阻害剤そのものの効果以外の報告はなく、FGF経路が活性化している胆管癌症例の特徴や、1次治療や併用投与などの効果は明らかではない。われわれはFGF経路が活性化している症例の臨床経過を調べ、FGFR阻害剤の最適な治療戦略を検討することを目的に研究を行った。</p>	
〔方法ならびに成績〕	
<p>FGF経路活性化を、FGFR2の下流のFibroblast Receptor Substrate 2蛋白のリン酸化(pFRS2)と定義した。肝内胆管癌71例の切除標本を用いて、pFRS2の免疫組織化学染色を行い、臨床経過を評価した。p<0.05を有意差ありとした。pFRS2は15例（21%）で陽性で、陰性例と比較して全生存期間、無再発生存期間、再発後生存期間に差を認めなかった。</p>	
<p>細胞実験で、FGFR遺伝子異常を認めない胆管癌細胞株(HuCCT1)、FGFR2融合遺伝子変異を有する胆管癌細胞株(CCLP-1)、胆管癌に対する1次治療のキードラッグであるゲムシタビンをCCLP-1に長期暴露し樹立した耐性株(CCLP-GR)を用いて、FGFR遺伝子変異の有無、FGFR遺伝子変異を有する症例における1次治療前と1次治療非奏効時の比較を想定した検討を行った。以下の検討は、それぞれ3回以上行い、p<0.01を有意差ありとした。</p>	
<p>FGF経路の活性化について、pFRS2と下流経路のSTAT3、AKT、ERKのリン酸化(pSTAT3、pAKT、pERK)をウエスタンプロット法で、増殖能、浸潤能、薬剤感受性についてスクラッチアッセイ、増殖アッセイ、MTTアッセイで検討した。HuCCT1とCCLP-1の比較では、pFRS2の蛋白発現はCCLP-1でのみ認めたが、pSTAT3、pAKT、pERKの蛋白発現は両細胞で差を認めず、増殖能、浸潤能や、ゲムシタビンの感受性にも差を認めなかった。CCLP-1とCCLP-GRの比較では、pFRS2、pSTAT3、pAKT、pERKの蛋白発現に差は認めず、FGFR阻害剤への感受性も差を認めなかった。以上から、FGFR遺伝子変異の有無による細胞の性質の変化や進展に関して差を認めず、1次治療前後でFGFR阻害薬の感受性に差を認めないと考えられた。</p>	
<p>次に、各細胞株にゲムシタビンとFGFR阻害剤の併用投与を行い、併用効果をCombination index(CI)を用いて評価した。CI<0.9を相乗効果ありとした。CCLP-1では相乗効果(CI=0.721)を示したが、CCLP-GR及びHuCCT1では相乗効果を認めなかった。薬剤による影響を、細胞周期アッセイ、アポトーシスアッセイで検討した。以下の検討では、ゲムシタビンとFGFR阻害剤はそれぞれIC₅₀濃度で投与した。ゲムシタビン投与により、HuCCT1ではG0/G1期の細胞割合が増加した(平均65.6%→86.8%、以下同)が、CCLP-1では差を認めなかった。一方で、FGFR阻害剤投与により、CCLP-1ではG0/G1期の細胞割合が増加した(67.3%→86.5%)。ゲムシタビン投与により、HuCCT1、CCLP-1いずれもアポトーシス細胞割合に差を認めなかった。以上から、ゲムシタビン投与によりHuCCT1では細胞周期が停止するのに対し、CCLP-1では細胞分裂が増加すると考えられた。</p>	
<p>続いて、ゲムシタビン投与によるFGF経路の反応を評価した。ゲムシタビン投与によりHuCCT1、CCLP-1いずれももFGF2、5、10のmRNAは15-700%の発現上昇を認め、CCLP-1においてはpFRS2及びpERKの蛋白発現が30-35%増加した。HuCCT1、CCLP-1の培養上清にrecombinant FGF(15ng/ml)を添加するとCCLP-1ではpFRS2、pERKの蛋白発現が100-130%増加した。以上から、ゲムシタビン投与により胆管癌細胞はFGFの発現、産生、分泌が誘導され、FGF受容体が蛋白発現している細胞ではFGF経路が活性化していることが示された。</p>	
<p>免疫不全マウスの皮下に5×10⁶個のヒト胆管癌細胞を移植してマウス換算量の薬剤を投与し検証を行った(n=5)。細胞実験と同様に、CCLP-1の皮下腫瘍モデルでは単剤投与(ゲムシタビン、ペミガチニブ)に比較して併用投与が有意に腫瘍増殖抑制を示した(単剤投与40-75%増殖抑制、併用投与86%増殖抑制)。</p>	
〔総括〕	
<p>FGFR変異を有する肝内胆管癌において、ゲムシタビンとFGFR阻害剤の併用投与は相乗効果を来し、1次治療としての新たな治療戦略になり得ると考えられた。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 伊藤 善郎		
論文審査担当者	(職) 主査 大阪大学教授	氏名 <u>シエロ 荘利</u>
	副査 大阪大学教授	<u>寺川 由美子</u>
	副査 大阪大学教授	<u>谷内田 真一</u>

論文審査の結果の要旨

本論文は、胆道癌における新たな治療戦略を見出すための基礎医学研究として、従来の抗癌剤であるGemcitabineと新規治療薬であるFGFR阻害剤の併用投与による効果およびその機序を、細胞実験および動物実験を用いて検証した。

FGF経路が活性化した肝内胆管癌細胞株は、FGF経路非活性肝内胆管癌細胞株と比較して増殖能や抗癌剤感受性に有意差は認められなかったが、Gemcitabine投与に対してFGF経路をより活性化させようとする機序を有する可能性が示唆された。また、FGFR阻害剤を併用した実験では、この反応が有意に抑制され、動物実験においてもGemcitabineとFGFR阻害薬の併用投与は、それぞれの単剤投与と比較して有意な相乗効果を発揮することが示された。一方で、Gemcitabine耐性株を用いた検討では相乗効果は認められなかった。

本研究によって、FGFR変異を有する胆道癌においてGemcitabineとFGFR阻害剤の併用療法が新たな一次治療法になり得ることが明らかとなった。

この内容は、学位の授与に値すると考えられる。