

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 27 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592930

研究課題名(和文)HPV陽性腫瘍に対する効率的な分子標的薬投与の可能性について

研究課題名(英文)Investigation of effective use of molecular targeting on HPV related tumors

研究代表者

砂川 元(SUNAKAWA, Hajime)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・名誉教授

研究者番号：30112452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円、(間接経費) 1,290,000円

研究成果の概要(和文)：何十年にもわたって、白金剤が抗癌剤治療の主流をなしてきた。しかしながら、徐々に耐性が生じ、打つ手がなくなってしまうのが現状である。本研究で我々は、PDGF受容体がHGF受容体、Metの発現を上昇させ、この過程がシスプラチン耐性化に関与している可能性を提示した。PDGF受容体を阻害した結果、HPV陽性腫瘍においてシスプラチン依存的なMetの発現上昇が抑制された。PDGF受容体阻害剤は臨床分野で幅広く使用されている薬剤であり、本研究によって、HPV陽性腫瘍に生じるシスプラチン耐性化にPDGF受容体阻害剤が有効である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：For decades, platinum drugs have been the mainstay of cancer treatment. However, over time, drug resistance develops, leaving few treatment options. Here, we show that, PDGFR-mediated signaling plays a key role in HGF receptor (c-Met) upregulation, which in turn is thought to play an important role in chemotherapy resistance. PDGFR inhibition eliminates cisplatin dependent Met expression in HPV positive cancer cell lines. PDGFR inhibitors are widely used in clinical settings, suggesting that the clinical translation of our findings could reduce the suffering people from drug resistance in HPV positive cancer cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：HPV

1. 研究開始当初の背景

近年、喫煙歴や飲酒歴とは無関係な若年層(20 - 49歳)の口腔癌患者が著しく増えてきている。これら若年層の口腔癌患者の腫瘍形成には HPV (ヒトパピローマウイルス) の関与が疑われてきている。HPV は子宮頸癌や一部の口腔癌の原因となる癌ウイルスである。しかしながら、HPV 感染は健康人一般にも広く観察される。このことより HPV 感染から発癌にいたるには、また別のリスクファクターの存在が想定される。

2. 研究の目的

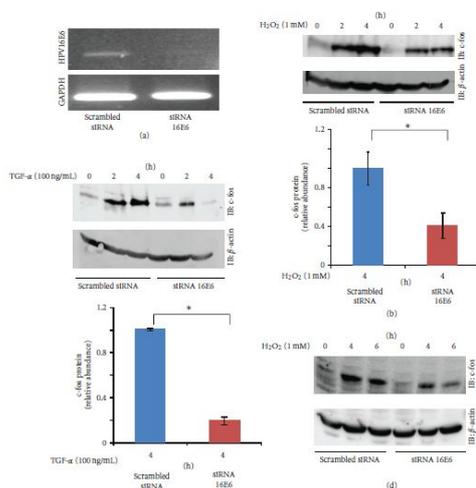
HPV 感染細胞を癌化へと導くリスクファクターを見出し、そのメカニズムを解明する。得られた知見から HPV 感染腫瘍に適した、治療薬、抗癌剤の使用を提案することを目的とする。

3. 研究の方法

HPV18 感染細胞、HPV16 感染細胞に酸化ストレスを加える。分子標的薬のターゲットとなっている様々なチロシンキナーゼ群に着目する。HPV ウィルス感染依存的に活性が上昇する受容体型チロシンキナーゼの活性化機構の詳細を検討する。HPV ウィルス感染特有な受容体型チロシンキナーゼの活性化を、現在幅広く臨床分野で使用されている様々な分子標的薬が阻害するか細胞生物学的手法で検討する。

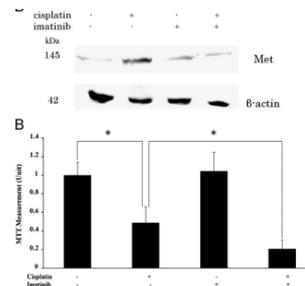
4. 研究成果

(1) HPV16E6 蛋白質が酸化ストレス環境下において、癌遺伝子産物 c-fos の発現上昇を促し、AP-1 複合体の形成を促進させていることが判明した。さらにこの反応は EGFR の下流で制御されていることも明らかになった。この結果により、HPV 感染腫瘍が酸化ストレス環境下で癌細胞としての機能を発揮する際には EGFR を使用していることが判明した(下図)。

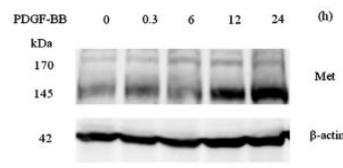


(2) シスプラチン曝露が PDGF 受容体と HGF 受容体 Met の経路に与える影響

シスプラチン依存的な受容体型チロシンキナーゼの活性化の意義を解明するために受容体型チロシンキナーゼ阻害剤を用いた実験を行った。シスプラチン 60 μM で癌細胞を曝露する直前に PDGF 受容体阻害剤で前処理を行った。シスプラチン依存的な Met の発現上昇は、imatinib の前処理により抑制された。シスプラチンと imatinib を併用した場合、シスプラチン単独と比較して、相乗的に癌細胞死が誘導された。この結果は、HPV 陽性腫瘍において活性酸素依存的な PDGF 受容体の活性化が抑制された結果であると考えられた。興味深いことに imatinib 単独では癌細胞死は、ほとんど誘導されなかった。このことより、imatinib による PDGF 受容体の阻害は、シスプラチン曝露により誘導される Met の発現上昇や、癌細胞の生存に重要な役割を有していることが判明した(下図)。



(3) PDGF 存在下における Met の発現を検討した。PDGF-BB は PDGF 受容体の主要なリガンドの一つである。HPV 陽性癌細胞において PDGF-BB 刺激後の Met タンパクの発現を経時的に観察した。PDGF-BB 刺激後に Erk や Akt の活性化が生じていることを確認した後、Met タンパク検出のためのウェスタンブロットを行った。Met 蛋白質は、PDGF-BB 刺激後、24 時間後に最も発現が上昇していた(下図)。



(4) HPV 陽性腫瘍に対して、血清を除去した場合と、除去した後に HGF を添加した培地のそれぞれの条件で cisplatin を曝露した。HGF の添加は、シスプラチン曝露後、二日後に行った。HGF を添加した細胞では、Akt の活性化が観察されたが、無添加の細胞では Akt の活性化はみられなかった。Met の阻害剤を加えた結果、Akt の活性化は抑制された。Met の発現上昇は、血清除去下でも観察されたことより、cisplatin 依存的な Met の発現上昇には血清は関わっていないことが判明した。一方、Met のリン酸化は HGF 添加後のみ観察された。HGF 依存的な Akt の活性化は、Met 阻害剤を加えると阻害されたことより、cisplatin 依存的な Met 経路の活性化は、autocrine の経路で生じていることが判明した。



〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ryukyu-oms.jp/index.jsp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

砂川 元 (SUNAKAWA HAJIME)

琉球大学・大学院医学研究科・名誉教授

研究者番号：30112452

(2) 研究分担者

喜名 振一郎 (KINA SHINICHIRO)

琉球大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：40422422

仁村 文和 (NIMURA HUMIKAZU)

琉球大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50457678

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：