

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年5月30日現在

機関番号：17301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23659950
 研究課題名（和文） 低酸素環境下における口腔癌幹細胞と分子標的治療薬に関する基礎的研究
 研究課題名（英文） Fundamental study about the cancer-of-the-mouth stem cell and molecular target drug under low oxygen environment
 研究代表者
 鳴瀬 智史（NARUSE TOMOFUMI）
 長崎大学・大学病院・助教
 研究者番号：70549609

研究成果の概要（和文）：

これまで得られた結果により、mTOR阻害薬は口腔扁平上皮癌の増殖能抑制、癌幹細胞機能の維持を破壊させることだけではなく、リンパ節転移に関与する遺伝子の抑制に対しても有効であり、mTOR阻害薬の口腔癌への応用は今後の新たな分子標的治療として有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

By the result obtained until now, a mTOR inhibitory drug Proliferation potency control of oral squamous cell carcinoma, Also to the control of a gene which participates not only in ruining maintenance of a cancer stem cell function but in lymph node metastasis, it is effective and the possibility that the application to the cancer of the mouth of a mTOR inhibitory drug was useful as future new molecular target medical treatment was suggested.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,000,000	600,000	2,600,000

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：臨床腫瘍学

1. 研究開始当初の背景

近年、口腔癌領域において、癌研究の一つに癌幹細胞が注目されている。癌幹細胞は自己複製能、分化能を有し、造腫瘍性および転移能が高く、抗癌剤に抵抗性を示すと言われ、治療法の開発は今後の重要課題となっている。一方、低酸素下癌細胞においても幹細胞

関連遺伝子の発現亢進がみられ、多くの点で癌幹細胞との類似性が明らかになっており、これらにはHIF-1経路の活性化が関与しているとの報告がある。現在までに研究代表者はmTOR-HIF-1 α -VEGF経路に着目し、これら因子の発現が口腔癌の進展度および浸潤度と相関性があることを明らかにしてきた。すな

わち研究代表者が以前よりテーマにしている mTOR 阻害剤を使用することで、癌幹細胞機能の維持を破綻することができ、化学療法および放射線療法も奏功する可能性が考えられたため、本研究を着想するに至った

2. 研究の目的

新規 mTOR 阻害薬 **everolimus** は元来、免疫抑制剤として使用されており、生体内の副作用も少ない。すでに、予後不良の腎細胞癌で承認されているが、口腔癌領域における応用例はない。すなわち、これを使用し低酸素下癌細胞および癌幹細胞への影響を検討することは、口腔癌領域における新規抗癌治療の開発に貢献できると考えている。今回われわれは口腔扁平上皮癌に対する抗腫瘍効果について検討を行ったので報告する。

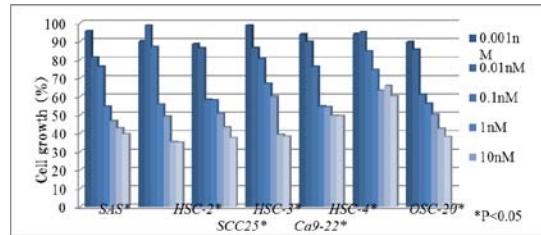
3. 研究の方法

当科で保有する口腔扁平上皮癌細胞株を用いて、mTOR 阻害薬による処理後の増殖能・浸潤能・遊走能、さらには低酸素下における癌細胞の感受性、癌幹細胞マーカーの発現変化について検討を行った。口腔扁平上皮癌症例 120 例を用いた研究で VEGF-C の発現が所属リンパ節転移と有意な相関性を示すことはすでに報告しているため、方針を一部変更し、T1 および T2 舌癌における手術検体を使用。免疫組織化学染色を行い、VEGF-C, VEGF-R3 さらにリンパ管形成のマーカーである podoplanin の発現とリンパ節後発転移との相関性について検討

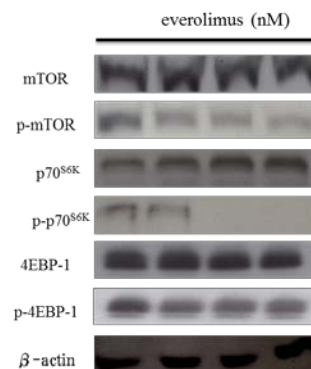
した。た当科で治療を行った

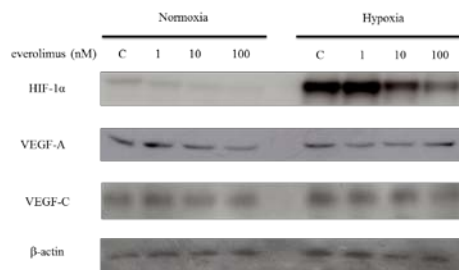
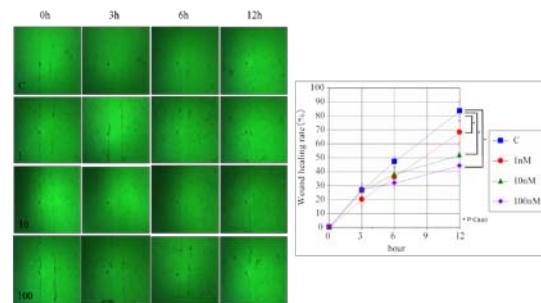
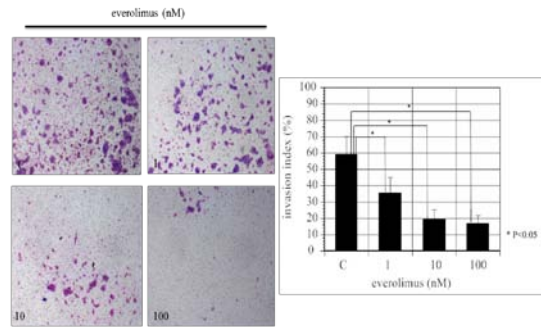
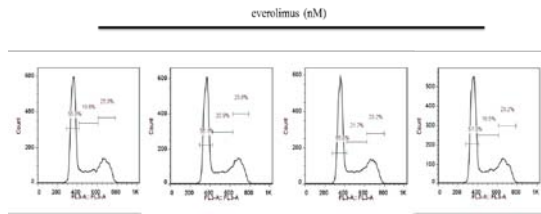
4. 研究成果

増殖能については、細胞株 7 株とも濃度依存的に有意に抑制される結果が得られた。



mTOR 経路関連因子の発現については、mTOR および下流に位置する因子すべて濃度依存的に発現レベルの低下が認められた。Flow cytometry による細胞周期の解析では、100nM にてわずかに G0/G1 期の延長が認められた。Invasion assay および Wound healing assay による浸潤能、遊走能の検討ではどちらも濃度依存的に抑制効果が認められた。低酸素下癌細胞においても、HIF-1-VEGF 経路および癌幹細胞マーカーの発現が濃度依存的に発現の抑制がみられ、低酸素下癌細胞における感受性が確認できた。





以上の結果から、mTOR 阻害薬を用いることで VEGF-C も有意に抑制させ、さらに局所浸潤能についても抑制する可能性が示唆されたため、さらに手術主体で治療を行った T1、T2 舌癌の後発転移の予測マーカーとなりえる可能性についても検討した。結果として、VEGF-C および VEGF-R3 は

後発転移症例全例に過剰発現がみられた。

また podoplanin を用いたリンパ管新生能についても、非転移群と比較し、有意に高い発現が認められた。また腫瘍深達度において、われわれは病理標本上 4mm 以上で有意に高い後発転移率を示すことを明らかにしており、これらの発現について検討を行ったところ、3mm 以下の症例と比較し、有意に 4mm 以上の症例で高い発現が認められた。

以上より mTOR 阻害薬 everolimus の抗腫瘍効果が示され、分子標的治療薬として有用である可能性が示唆された。

また VEGF-C-VEGF-R3 経路は口腔扁平上皮癌の所属リンパ節転移に対する予測マーカーとなりえる可能性が示唆された。

VEGF-C-VEGF-R3 を含めた研究成果は日本頭頸部癌学会総会・学術集会（東京都）で発表予定としている。

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)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 1 件)
日本口腔外科学会総会・学術集会
(2012. 10 月 22~24 日。横浜市)
「口腔扁平上皮癌における mTOR 阻害薬 everolimus の抗腫瘍効果について」

[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

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鳴瀬 智史（ NARUSE TOMOFUMI ）

研究者番号：**70549609**

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし