

平成 23 年 5 月 26 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791990

研究課題名 (和文) 口腔癌の分子標的薬感受性診断

研究課題名 (英文) Sensitivity diagnosis of molecular target drugs for oral cancer

研究代表者

青田 桂子 (AOTA KEIKO)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70437391

研究成果の概要 (和文)：本研究では分子標的薬の口腔癌治療への応用を目指した。まず、ヒト口腔癌細胞を用いて分子標的薬の標的分子の発現を検索したところ、ABL1 の発現亢進が全ての細胞株に共通して認められた。つづいて、口腔扁平上皮癌組織を用いて ABL1 を標的とするイマチニブおよびニロチニブに対する感受性を評価したところ、ニロチニブに対する感受性が認められた。以上より、感受性診断によってニロチニブは口腔癌治療に応用可能であることが示された。

研究成果の概要 (英文)：This study have attempted to apply molecular target drugs to treatment with oral cancer. First, we examined the expression of target molecules of various molecular target drugs. ABL1 was commonly overexpressed in all cell lines. Next, we tested the sensitivity of Imatinib and Nilotinib targeting ABL1 against oral squamous cell carcinomas. Nilotinib showed the growth inhibitory effect. These results suggest that Nilotinib can be applied in treatment with oral cancer by evaluating its sensitivity against each case.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：口腔扁平上皮癌、ABL1、イマチニブ、ニロチニブ、RNA干渉

1. 研究開始当初の背景

近年、種々の悪性腫瘍に対して多種多様の分子標的薬が開発され、臨床応用されている。その種類は今後も急増すると容易に予測できる。しかしながら、現時点では本邦において口腔癌治療に使用できる分子標的薬は存在しない。分子標的薬は、ある特定の分子に結合し、その機能を抑制することが知られている。したがって、口腔癌においても分子標的薬の標的分子にその増殖、浸潤、転移が支持されている場合は、他の癌腫に使用されている分子標的薬でもその抗腫瘍効果は十分に期待できる。

口腔癌は主に手術により治療されるが、切除量に比例して術後の生活の質は低下する。よって、特に進行癌に対しては手術を用いない新規治療法の開発が急務である。最近、マウスで単一の癌遺伝子を分子標的にするのみで骨肉腫等の難治性悪性腫瘍の分化誘導による治癒が観察され、癌遺伝子への依存が癌のアキレス腱となることが示された (Jain M, et al. Sustained loss of a neoplastic phenotype by brief inactivation of MYC. *Science* 297 (5578): 102-104, 2002)。ヒトでも慢性骨髄性白血病において癌遺伝子として機能している Bcr-Abl を分子標的としたメシル酸イマチニブ (グリベック) が臨床応用され、その有用性が示されている (Druker BJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 344 (14): 1031-1037, 2001)。グリベックは Bcr-Abl 以外にも c-Kit、血小板由来増殖因子受容体 (PDGFR) の活性阻害効果を有しており、その阻害効果は PDGFR > c-Kit > Bcr-Abl の順になっており、PDGFR に対する阻害効果が最も強い。また、グリベックは

既に c-Kit 陽性消化管間質腫瘍の治療にも適用され、その有用性が確認されている (Dagher R, et al. Approval summary: imatinib mesylate in the treatment of metastatic and/or unresectable malignant gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 8 (10): 3034-3038, 2002)。国内外でもグリベックの PDGFR 阻害活性による甲状腺癌、乳癌、子宮頸癌、前立腺癌、非小細胞肺癌、大腸癌、脳腫瘍に対する抗腫瘍効果が確認されており、また唾液腺癌に対してもその抗腫瘍効果が報告されている。特に前立腺癌、大腸癌では血管新生阻害効果による抗腫瘍活性が明らかにされており、あらゆる悪性腫瘍治療への応用が期待される。

2. 研究の目的

21 世紀の癌医療の重要な治療ツールの一つは分子標的薬である。したがって、分子標的薬の適正な使用は口腔癌の治療成績向上に寄与できると考えられる。しかしながら、現在市販されている分子標的薬は全て他臓器に発生する転移性進行癌を適応疾患としており、口腔癌治療に使用できる分子標的薬は存在しない。本研究では、分子標的薬の適応を癌の発生する臓器に関わらず標的分子の発現および活性により決定できることを明らかにすることに学術的な特色および独創的な点がある。分子標的薬の作用機序を考慮するとその抗腫瘍効果は発生臓器に関わらず、標的遺伝子の活性にある程度依存して増殖している腫瘍であれば期待できる。

本研究成果は、本研究では種々の悪性腫瘍の治療にすでに使用されている分子標的薬の口腔癌治療への応用を目指し、分子標的薬感受性診断法を確立する。

3. 研究の方法

1) 口腔癌組織および同正常粘膜部と培養ヒト口腔癌細胞株より蛋白質を抽出し、Western blot 法にて分子標的薬の標的分子(グリベック: ABL1、BCR、KIT、PDGFRA、PDGFRB; イレッサ: EGFR; ネクサバル: BRAF、FLT3、FLT4、KDR、KIT、PDGFRB、RAF1; スーテント: CSF1R、FLT1、FLT4、KDR、KIT、PDGFRA、PDGFRB、RET)の発現を検索した。

2) ヒト口腔扁平上皮癌細胞 5 株を用いて ABL1 の分子標的薬であるイマチニブ、ニロチニブと標的配列の異なる 3 種類の ABL1 に対する合成 small interfering RNA (siABL1) の細胞増殖に及ぼす影響を *in vitro* および *in vivo* にて評価した。

3) 口腔扁平上皮癌患者より切除した腫瘍組織のイマチニブおよびニロチニブに対する感受性を collagen gel droplet embedded drug sensitivity test (CD-DST) 法にて評価した。

4. 研究成果

1) ABL1 と EGFR の発現亢進が全ての細胞株に共通して認められた。つづいて、ABL1 および EGFR に対する合成 small interfering RNA のヒト口腔癌細胞増殖に及ぼす影響を検討した結果、ABL1 の発現抑制は細胞増殖を阻害したが、EGFR の発現抑制は細胞増殖に影響を与えなかった。

2) ABL1 の阻害は全てのヒト口腔扁平上皮癌細胞の増殖を抑制した。さらに、ヒト口腔扁平上皮癌細胞ヌードマウス背部移植腫瘍に対してもイマチニブ、ニロチニブ(経口投与)と siABL1/アテロコラーゲン(静脈内投与)は、一定の抗腫瘍効果を示した。なお、抗腫瘍活性は siABL1/アテロコラーゲン、ニロチニブ、イマチニブの順に高かった。

3) 口腔扁平上皮癌患者より切除した腫瘍組織に対して、イマチニブに感受性を示す症例

は全く認められなかったが、ニロチニブに対しては 67% の症例で感受性が認められた。

以上の結果は、口腔癌の治療標的分子として ABL1 は有用で、その分子標的薬であるニロチニブは CD-DST 法を用いることにより口腔癌治療に応用可能であることを示唆した。

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 1 件)

- ① 濱田正和、青田桂子、C1 インヒビター投与下に嚢胞摘出術を行った遺伝性血管浮腫の 1 例、日本口腔外科学会雑誌、査読有、第 57 巻、2011、74-77

[学会発表] (計 5 件)

- ① 青田桂子、巨大な舌リンパ管・静脈奇形の治療経験、第 55 回日本口腔外科学会総会・学術総会、2010. 10. 16、幕張メッセ
- ② 新谷素子、高橋 元、濱田正和、山本直典、青田桂子、岩井聡一、由良義明、Sonoporation が腫瘍融解性ウイルスの感染に及ぼす影響、2010. 10. 16、幕張メッセ
- ③ 若林 健、墨 哲郎、三木哲英、青田桂子、山本直典、新谷素子、由良義明、上顎臼歯部に発生した骨芽細胞腫の 1 例、第 41 回日本口腔外科学会近畿地方会、2010. 6. 19、和歌山県立医科大学 紀三井寺キャンパス講堂
- ④ 奥長秀介、濱田正和、新谷素子、青田桂子、由良義明、遺伝性血管浮腫患者に対する C1-INH 製剤投与下の手術経験、第

41 回日本口腔外科学会近畿地方会、
2010. 6. 19、和歌山県立医科大学 紀三井
寺キャンパス講堂

⑤岩井聡一、中澤光博、墨 哲郎、加藤逸郎、
竹内憲民、青田桂子、下顎骨切除に対する
新しい腭骨皮弁再建システムの有用性、第
28 回日本口腔腫瘍学会総会・学術集会、
2010. 1. 28、学術総合センター

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青田 桂子 (AOTA KEIKO)

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：70437391