

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09725

研究課題名(和文)スタチン系薬剤が口腔扁平上皮癌の発育・浸潤に与える影響

研究課題名(英文)Effects of Statin on oral squamous cell carcinoma cell growth and invasion

研究代表者

檀上 敦 (Danjo, Atsushi)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号：80452712

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：スタチン系薬剤は血中のコレステロールを低下させる薬剤であり、脂質異常症患者において心臓疾患や脳血管疾患の発症リスクを低下させる効果がある薬剤である。近年、スタチンを内服している一部の癌患者において、その死亡リスクが低いという報告がされた。しかしながら口腔癌においてその効果の程は不明である。さらにスタチンはBMP-2の合成促進を介して骨形成を促進することや破骨細胞の活性を抑制する、すなわち骨形成を促進することが報告されている。本研究は、スタチンが口腔癌の発育、浸潤、特に顎骨浸潤において効果があるかどうかを検証したものである。

研究成果の学術的意義や社会的意義

コレステロールは人体に必須な脂質であるが、動脈硬化を引き起こす原因となる。スタチン系薬剤はコレステロールの合成を阻害する薬剤で、本邦での対象患者は200万人を超える。近年スタチン製剤が一部の癌の発生を抑える可能性について報告がされている。口腔癌においてはその報告はわずかである。スタチン系薬剤はまた骨芽細胞を促進させ、破骨細胞を抑制することで骨形成を促進することが報告されている薬剤でもある。そこで、スタチンを服用している事で口腔癌の腫瘍抑制効果があるのか、顎骨浸潤の抑制効果があるのかを分析した。本研究によって、スタチン内服患者における口腔癌の浸潤、転移の予後予測の基盤になるのではないかと考える。

研究成果の概要(英文)：Statins are drugs that reduce cholesterol in the blood and are effective in reducing the risk of developing cardiovascular and cerebrovascular disease in patients with hyperlipidemia.

Recently, it has been reported that some cancer patients taking statins have a low risk of death. But, the effects in oral cancer are unknown. Furthermore, it has been reported that statins promote bone formation through promotion of BMP-2 synthesis and suppress osteoclast activity, that is, promote bone formation.

This study analyses whether statins are effective in the development and invasion of oral cancer, especially invasion of the jawbone.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔癌 骨形成 骨代謝 スタチン

## 1. 研究開始当初の背景

コレステロールは人体に必須な脂質であるが、年齢によるコレステロール調節機能の低下や過剰摂取によって、血中コレステロールの上昇をまねき脂質異常症となり、動脈硬化や虚血性心疾患、脳梗塞を引き起こす原因となる。コレステロールの8割は、肝臓でメバロン酸経路といわれる経路を介して合成される。スタチン系薬剤はHMG-CoAからメバロン酸へと返還する際に必要なHMG-CoA還元酵素を阻害することで、コレステロールの合成阻害を達成する。その対象患者数は本邦だけで200万人を超えており、年々増加傾向にある。

近年、スタチン製剤が癌の発生を抑える可能性について、世界中で注目を集めている(Nielsen SF, N Engl J Med, 2012)。卵巣癌や前立腺癌、肝臓癌、膵臓癌においてはスタチンの投与によって進行が抑制されることが報告されている(Kobayashi Y, Clin Cancer Res, 2015. Jacobs E, Cancer Epidemiol Biomarkers, 2007. Kawata S, Jpn J Cancer Res, 1992. 島添隆雄, 癌と化学療法, 1994)。一方で、血液癌では効果がないとする報告もあり、癌腫によって報告が一定でない。また、口腔癌においては、2つの報告がなされており、*in vitro* でスタチンが癌細胞のアポトーシスを誘導することと(藤原, 薬学雑誌, 2008) 経静脈的に接種された口腔癌細胞がスタチンの投与によって血管新生や肺転移が抑制されることが報告されている(Islam M, Oral Oncol, 2013)。

スタチン系薬剤はまた、BMP-2タンパクの合成を促進させ、細胞培養や器官培養において骨形成を促進させることが報告されている(Mundy G, Science, 1999)。また、破骨細胞においてはアトルバスタチンがRANKLのdecoyであるOPGの発現を促進することで骨吸収を抑制すると報告されている(Dolci GS, Am J Orthod Dentofacial Orthop, 2017)。スタチン系薬剤は骨粗鬆症に対する薬剤として頻りに用いられているビスフォスフォネート系薬剤とメバロン酸経路を阻害するという点でその薬理作用が類似している。しかし、ビスフォスフォネートのように骨基質に選択的に移行する性質はないため(Hamelin BA, Trends Pharmacol Sci, 1998) *in vivo* における骨形成促進に対する効果は限定的であると考えられている。ところが、閉経後の女性にスタチンを経口摂取させると非内服群と比べて骨密度が高いという報告(Edwards CJ, Lancet, 2000)が存在していたり、局所投与することで、骨欠損部分の骨再生を促進したり、デンタルインプラント周囲に局所投与することでインプラント周囲の骨密度や骨の機械的性質を改善することができると報告されている(Paradimitriou K, J Craniomaxillofac Surg, 2015; Moriyama Y, Acta Biomater, 2010)。

このように、スタチンと口腔癌では口腔癌の転移抑制効果があることが期待され、骨形成とでは局所投与することで骨形成に促進的に働くことが期待される。しかしながら、スタチンを内服している脂質異常症における腫瘍抑制効果に関しては不明である。

顎骨への浸潤を伴う進行した口腔癌の治療は、顎骨切除を伴う手術が必要となり、術後に顔面の変形、咀嚼嚥下機能の低下などの障害を来す。また、その予後は不良であることが多く、口腔癌の顎骨浸潤を抑制することは、癌患者のQOLの向上や予後に貢献すると考えられる。そこで、「口腔癌において、スタチンの癌抑制効果や骨浸潤抑制効果があるのか?」という疑問を抱き、本実験計画を立案した。

## 2 . 研究の目的

本研究の目的は、①口腔癌における *in vitro* でのスタチンの腫瘍抑制効果があるかどうかを確認すること、 ②口腔癌の顎骨浸潤モデル動物を製作し、スタチンを全身投与もしくは局所投与してその腫瘍抑制効果と骨吸収抑制効果を *in vivo* で評価すること③スタチンを内服している脂質異常症モデル動物に口腔癌細胞を接種し、腫瘍抑制効果の有無を評価することである。

## 3 . 研究の方法

### 【*in vitro*】

ヒト扁平上皮癌細胞である HSC2,3,4 を、スタチン（フルバスタチン、アトルバスタチン）を添加して培養した。また同様の実験を C3H/He マウス由来の扁平上皮癌細胞である SCC7 を用いておこなった。濃度は  $1\mu\text{M}$  ~  $10\mu\text{M}$  までの濃度とした。

評価項目：細胞増殖の測定、アポトーシスの評価（アネキシン V 染色）、細胞浸潤の評価（Matrigel での 3 次元培養、scratch assay）

### 【*in vivo*】

SCC7 細胞を  $1.0 \times 10^6$  cells、8-10 週齢の C3H/He マウスの咬筋へ注射し(Nomura, Oral Oncol, 2007)、2 週間待機して、腫瘍の浸潤、転移を確認した。

スタチンはヒトに用いる臨床的な濃度を模倣して 10mg/kg の濃度で腫瘍浸潤成立後に投与した（Islam M, Oral Oncol, 2013）。

- ・マクロ評価：腫瘍の体積、重量の計測
- ・組織学的評価：下顎骨の HE 染色、肺や肝等への転移の有無の検索、TRAP 染色

## 4 . 研究成果

### 【*in vitro*】

マウス扁平上皮癌細胞である SCC7 やヒト扁平上皮癌細胞である HSC2, 4 において濃度依存的に、時間依存的に細胞増殖能の低下、アポトーシスの誘導、細胞浸潤能の低下を認めた。HSC3 においては有意な細胞増殖能の低下を認められなかった。

### 【*in vivo*】

マウス扁平上皮癌細胞である SCC7 をマウス咬筋に注入し、口腔癌モデル動物を作製した。腫瘍浸潤を確認した後、スタチンを腹腔内投与し、1 - 4 週後の腫瘍浸潤の変化を評価した。スタチン投与群と非投与群で腫瘍の体積、重量、組織学的な変化、骨浸潤の変化に有意差は認められなかった。

今回の実験結果からはスタチンの口腔癌細胞の増殖抑制効果は *in vitro* では確認できたが、細胞によって反応に差があったこと、*in vivo* では、腫瘍抑制効果は認められなかったことがわかった。In vivo の抑制効果に関しては、スタチンの投与量や評価時期、投与方法、スタチン投与開始時期等、まだ今後検討すべき余地があると思われる。

スタチンに対する反応が細胞腫の違いによって異なった事に関して、過去の報告からはスタチンが RhoC や Ras/ERK 経路を抑制し、アポトーシスを誘導すると報告されている事から、今後はシグナル経路に着目して、そのメカニズムの解析を進めていきたいと考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Danjo A, Aijima R, Yoshimoto RU, Tanaka S, Iwamoto S, Katsuki T, Aoki S, Kido MA, Yamashita Y	4. 巻 34
2. 論文標題 An ultrasonic osteotomy device enhanced post-osteotomy bone healing beyond that with a conventional rotary device in a rat calvarial model.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg Pathol	6. 最初と最後の頁 243-251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ajoms.2021.10.002	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Danjo A, Yamashita Y
2. 発表標題 Occlusal reconstruction to recover masticatory function with dental implants and maxillary protheses
3. 学会等名 IAOO 2019, 7th world congress of the international academy of oral oncology
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山下 佳雄 (Yamashita Yoshio) (50322300)	佐賀大学・医学部・教授  (17201)	
研究分担者	下平 大治 (Shimohira Daiji) (70594844)	佐賀大学・医学部・助教  (17201)	
研究分担者	森 啓輔 (Mori Keisuke) (60774114)	佐賀大学・医学部・助教  (17201)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	合島 怜央奈  (Aijima Reona)  (30756143)	佐賀大学・医学部・助教     (17201)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関