

平成22年 5月24日現在

研究種目：若手研究 B
研究期間：2008～2009
課題番号：20791547
研究課題名（和文） 口腔癌における分子標的治療薬の網羅的スクリーニング

研究課題名（英文） Screening of cell growth inhibitors in oral cancer cells using a SCADS inhibitor kit.

研究代表者

高岡 清佳 (SAYAKA TAKAOKA)

昭和大学歯学部顎口腔疾患制御外科学教室 助教

研究者番号：00453639

研究成果の概要（和文）：

近年、分子標的治療薬は、癌細胞に対してより特異的かつ効果的に作用する新たな化学療法薬として注目されており、多くの研究者によって新規分子標的治療薬の開発が盛んに行われている。我々は、従来までの方法論ではなく多種類の阻害剤が口腔癌に及ぼす影響を網羅的に解析することによって、治療の標的に適したシグナル伝達経路とそれに係わる因子の特定を試みた。

研究成果の概要（英文）：

Recently, molecular target therapy has been gaining attention for its specificity for cancer cells, and numerous researchers have been trying to identify new molecular targets. In this study, we attempted to identify new target molecules, not using a conventional strategy but by using a wide comparison analysis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
20年度	1900000	570000	2470000
21年度	1300000	390000	1690000
年度			
年度			
年度			
総計	3200000	960000	4160000

研究分野：口腔外科

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：阻害剤、スクリーニング、口腔扁平上皮癌、網羅的解析

1. 研究開始当初の背景

分子標的治療薬は、癌細胞に対してより特異的かつ効果的に作用する新たな化学療法薬として近年注目されており、EGFR阻害剤やCDK阻害剤などいくつかの製剤は臨床応用で一定の効果を上げている。しかし、癌細胞の増殖・転移制御機構は複雑であり、

ある症例では高い効果を示した分子標的治療薬が、同様の別な症例では見るべき効果を示さないという事例も報告されている。そこで、癌細胞の増殖・転移制御機構をより詳細に解明し、より効果的な新規分子標的治療薬の開発、または既存の製剤の新たなコンビネーション療法の確立が強く求められる。分子

標的治療薬の開発は現在も盛んに行われているが、これらはいずれも癌細胞において特異的に過剰発現または機能亢進している因子を同定し、これを標的としたものである。しかし *in vivo* における癌細胞の増殖・転移は、癌細胞自体の悪性形質のみではなく、腫瘍が生体周囲に作り出す生理的環境因子にも大きく影響を受けるため、異なったアプローチでの研究・開発が必要と考えられる。

2. 研究の目的

従来までの方法論によって腫瘍特異的因子の阻害療法を確立するのではなく、逆に既知の阻害剤が口腔癌に及ぼす影響を網羅的に解析することによって、治療の標的に適したシグナル伝達経路とそれに係わる因子を特定し、分子標的治療薬の再抽出とその組み合わせを検討するとともに、新規腫瘍マーカーを同定することである。さらに、その因子や経路が口腔癌の悪性形質の獲得と維持においていかなる意味を持つかも合わせて検討することを目的とする。

3. 研究の方法

スクリーニングには文部科学省より提供された SCADS Inhibitor Kit (標準阻害剤キット、文部科学省がん特定・統合がん「化学療法基盤情報支援班」) を使用し、7 種類の口

腔癌細胞 (SAS, HSC-2, HSC-3, HSC-4, CA9-22, SCC25, SCC111) に対する増殖抑制効果を MTT assay にて評価した。また、その増殖抑制機序解析のため、アポトーシス検出を DNA Ladder Analysis で、蛋白発現に及ぼす影響を Western blot 法にて解析した。

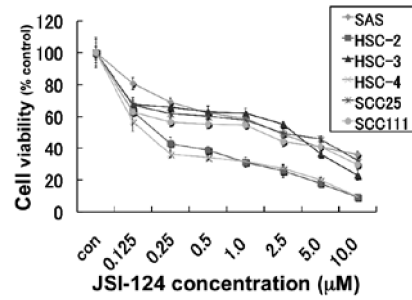
4. 研究成果

薬剤スクリーニングの結果、いくつかの阻害剤で著明な増殖抑制効果が認められた (table 1)

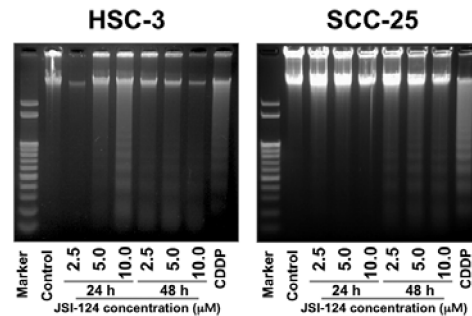
Table 1 Cytotoxic effect of the inhibitors on OSCC cell lines

Inhibitors	Targets	48 h survival rate (%)						
		HSC-2	HSC-3	HSC-4	SAS	CA9-22	SCC-25	SCC-111
Trichostatin A	HDAC	8.8	7.6	2.3	7.8	5.4	10.5	29.0
Cycloheximide	protein synthesis	38.5	32.5	29.8	31.4	67.3	30.3	58.0
Radicaloid	HSP90	40.1	53.0	32.2	31.2	17.6	56.3	70.4
17-AAG	HSP90	11.3	37.8	2.5	38.4	26.2	43.7	67.5
JSI-124 (Conurbilacin I)	STAT3	14.5	19.6	5.9	36.2	9.2	19.4	43.9
Staurosporine	PKC, PKA, PKG, MLCK	9.0	4.3	2.4	5.9	4.6	7.7	30.6
MG-132	proteasome	9.2	8.0	2.3	7.3	4.5	8.1	16.1
Nocodazole	tubulin depolymerization	27.5	34.0	23.7	50.9	8.9	14.1	24.4
Blebbistatin A1	V-ATPase	21.3	25.1	9.1	23.6	9.7	46.3	90.4
SIR 225002	CXCR2	38.5	36.1	27.6	66.7	11.5	61.3	53.1
Monensin	Na ionophore	55.2	41.2	32.5	48.8	65.9	43.6	71.6
Quabaïn	Na ⁺ K ⁺ ATPase	9.0	13.4	2.4	5.9	6.5	21.0	23.9
Sanguinarine	Na ⁺ K ⁺ ATPase	9.0	4.0	2.6	5.0	5.1	14.8	29.6
Valsartan	K ⁺ ionophore	37.9	31.9	36.2	29.0	33.5	39.1	54.0
Thapsigargin	Ca-ATPase	23.2	31.0	18.4	40.4	46.2	18.9	30.4
Rotenone	mitochondrial complex I	39.2	37.8	32.0	56.9	7.7	26.3	38.9
Leptomycin B	CRM1	12.5	10.8	3.5	14.4	19.7	28.5	41.7
Tunicamycin	glycosylation	52.5	24.0	31.5	18.6	24.4	53.0	64.1
LY 83583	guanylate cyclase	45.9	23.3	13.3	43.6	63.9	57.6	89.1
Chetozin	HIF	7.8	3.7	2.4	7.9	4.5	11.7	15.5

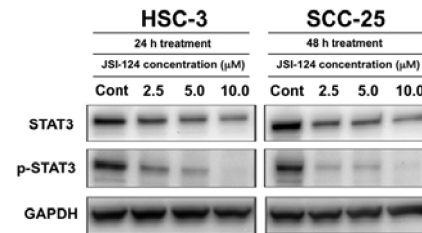
その中から STAT3 阻害剤である JSI-124 についてより詳細に検討した。JSI-124 の口腔扁平上皮癌細胞に対する増殖抑制効果を MTT assay にて評価したところ、JSI-124 は濃度依存的に細胞増殖を抑制した (Fig 1)



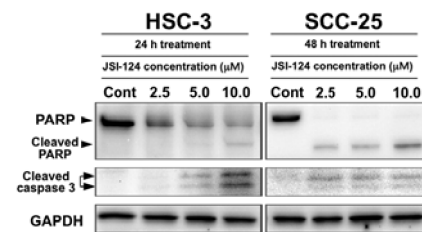
HSC-3、SCC25 は JSI-124 処理により、著明な DNA の断片化を示した (Fig 2)。



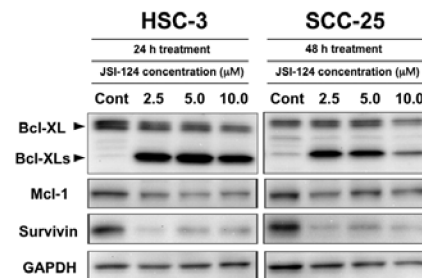
さらに JSI-124 はリン酸化 STAT3 の発現を低下させ (Fig 3)、



アポトーシス関連蛋白である PARP、Caspase3 の活性化 (Fig 4)、



Survivin の発現を低下させた (Fig 5)。



研究者番号：70555078

スクリーニングの結果より抽出した阻害剤、JSI-124 による STAT3 シグナルの阻害は口腔扁平上皮癌の新たな治療戦略になりうることを示唆された。

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 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高岡 清佳 (SAYAKA TAKAOKA)

昭和大学・歯学部顎口腔疾患制御外科学・
助教

研究者番号：00453639

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

南雲 達人 (TATSUHITO NAGUMO)