

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5 月 15 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592195

研究課題名（和文）Stat3 を分子標的とした頭頸部癌治療

研究課題名（英文） Stat3 targeted therapy in head and neck cancer

研究代表者

益田 宗幸（MASUDA MUNYUKI）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：90284504

研究成果の概要（和文）：EGFR 頭頸部癌において高頻度に活性化され、Stat3 の恒常的活性化にも大きな影響を及ぼす。EGFR の細胞内内在化を促す Cbl interacting protein of 85 kDa (CIN85)の EGFR シグナルに対する影響を解析した。CIN85 は EGFR シグナルを抑制することにより腫瘍抑制的な作用をもつことが予想されたが、臨床標本では 40%の症例で過剰発現しておりその発現は腫瘍の臨床病期と正の相関を示した。In vitro の解析では、CIN85 は TGF- $\alpha$  の刺激下では Stat3 の活性は抑制するが MAPK の活性を亢進させることが明らかになった。頭頸部癌における EGFR シグナルによる発癌・progression のメカニズムは一様ではなく、少なくとも EGFR-Stat3、EGFR-CIN85-MAPK の二つの系があることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), the frequent overexpression of EGFR is associated with the constitutive activation of Stat3. We analyzed the effects of Cbl interacting protein of 85 kDa (CIN85), which is involved in ligand-induced internalization of EGFR, focusing on EGFR signaling pathways. It was expected that CIN85 might exert inhibitory effects on EGFR signaling, thus leading to tumor inhibition. However, on the contrary, CIN85 was over-expressed in 40% of HNSCC tumor samples and this overexpression was significantly associated with advanced clinical stage. Mechanistic studies, in vitro, demonstrated that upon TGF- $\alpha$  stimuli, CIN85 activated MAPK cascade but inhibited Stat3 activity. Thus, it is suggested that in HNSCC, EGFR promotes carcinogenesis utilizing at least two different signaling axis: EGFR-CIN85-MAPK or EGFR-Stat3.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2100000	630000	2730000
2010年度	800000	240000	1040000
2011年度	700000	210000	910000
年度			
年度			
総計	3600000	1080000	4680000

研究分野：外科臨床医学

科研費の分科・細目：耳鼻咽喉科学

キーワード：Stat3、分子標的、CIN85

## 1. 研究開始当初の背景

世界的にみると、頭頸部癌の発生頻度は全癌中6位を占めており、主要な癌腫の一つであるにも関わらず、この20-30年間、頭頸部癌患者の予後は向上していない。頭頸部癌の生物学的特性に根ざした分子標的治療法を開発することが急務である。近年、多くの実験的・臨床的な研究を通じて、癌細胞が悪性形質 (malignant phenotype) を維持するために、ある特定の遺伝子の持続的な活性化に強く依存している現象が報告されている。本実験の共同研究者であるI.B.Weinstein教授は、この現象を、癌遺伝子中毒 (oncogene addiction)”と定義 (Science:2002;297:63-4) し、癌分子標的治療の理論的根拠として提唱してきた。現在我々は、分子標的治療を成功させるためには最低限以下の項目を満たすことが必要と考えている。

1. 治療対象とする癌が目的とする分子標的に強く依存 (分子標的中毒状態) にあること。
2. 分子標的中毒状態から逸脱=治療抵抗性を獲得する可能性が低いこと。
3. 臨床応用できる分子標的治療法が確立されていること。
4. 分子標的治療に伴う副作用がすくないこと。

## 2. 研究の目的

本研究の最終目的は、頭頸部癌においてこの4つの項目を満たす分子標的治療法を確立することである。

## 3. 研究の方法

頭頸部癌臨床標本における CIN85mRNA の発現量を定量的 RT-PCR 法にて解析。正常組織の発現量をコントロールとした。発現量と臨床病期因子との相関を解析した。次に内因的な CIN85 の発現量に差のある 2 種類の頭頸部癌細胞株、KB(high-CIN85), YCU-H(low-CIN85)において CIN85 の発現量を変化 (CIN85 の強制発現と shRNA 法による silencing) させ、増殖能、EGFR の細胞内内在化に与える影響、EGFR 下流のシグナルに及ぼす影響を解析した。

## 4. 研究成果

臨床標本 ; 口腔癌組織の 40% で、CIN85mRNA の発現は隣接正常組織の 2 倍以上の高値を示し、CIN85mRNA の発現量と臨床病期 ( $p<0.05$ )、頸部リンパ節転移の有無 ( $p<0.01$ )との間に有意な相関を認めた。In vitro ; CIN85 蛋白発現量の変化は EGFR の内在化に影響を与えたが、EGFR 蛋白の発現量やリン酸化(y1068)に影響を与えなかった CIN85 は TGF- $\alpha$ 刺激時に EGFR からのシグナルを MAPK カスケード伝達する作用があることがわかった。このため Stat3 が恒常的に活性化している細胞に、CIN85 を過剰発現させると EGFR シグナルの伝達が Stat3 から MAPK へ切り替わる。

CIN85はEGFRシグナルをMAPKカスケードに選択的に伝達することにより、MAPKカスケード依存的に頭頸部癌のプログレッションに参与することが示唆される。

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 5 件)

1. Wakasaki T, Masuda M, Niiro H, Komune S, Akashi K. CIN85, a multi-adoptpr protein, predominantly transmirs the EGFR signal to the MAPK cascade ane enhance tumor proliferation in HNSCC. *Oral Oncol* 2009;3(1):211.
2. Wakasaki T, Masuda M, Niiro H, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Noda K, Taniyama T, Komune S, Akashi K. A critical role of c-Cbl-interacting protein of 85 kDa in the development and progression of head and neck squamous cell carcinomas through the ras-ERK pathway. *Neoplasia* 2010;12(10):789-96.
3. Masuda M, Wakasaki T, Suzui M, Toh S, Joe AK, Weinstein IB. Stat3 orchestrates tumor development and progression: the Achilles' heel of head and neck cancers? *Curr Cancer Drug Target* 2010;10:117-126.
4. Masuda M, Wakasaki T, Toh S, Shimizu M, Adachi S. Chemoprevention of Head and Neck Cancer by Green Tea Extract: EGCG-The Role of EGFR Signaling and "Lipid Raft". *J Oncol* 2011;2011:540148.

5. Shimizu M, Adachi S, Masuda M, Kozawa O, Moriwaki H. Cancer chemoprevention with green tea catechins by targeting receptor tyrosine kinases. *Mol Nutr Food Res* 2011;55(6):832-43.

[学会発表] (計 4 件)

1. 若崎高裕, 益田宗幸, 新納宏昭, 赤司浩一, 小宗静男. Cbl interacting protein of 85 kDa (CIN85) predominantly transmirs EGFR signal to MAPK cascade, and enhance tumor progression in head and neck squamous cell carcinoma. In: 第 68 回日本癌学会学術総会; 2009 10/1-3; 横浜
2. 益田宗幸, 福島淳一, 藤村晶子, 江島正義, 瓜生英興. 上咽頭腺癌に対する combined cervical and trans-orbitozygonatic approach. In: 第 35 回日本頭頸部癌学会; 2011 6/9-10; 名古屋
3. Wakasaki T, Masuda M, Niiro H, Komune S, Akashi K. CIN85, a multi-adoptpr protein, predominantly transmirs the EGFR signal to the MAPK cascade ane enhance tumor proliferation in HNSCC. In: 2nd World Congress of the International Academy of Oral Oncology; 2009 7/8-11; Toronto
4. Wakasaki T, Masuda M, Niiro H, Komune S. A critical role of a c-cbl interacting protein of 85 kd in the development and progression of head and neck squamous cell carcinoa via the ras-ERK pathway In: AHNS 2010 researech workshop on the biology, prevention and treatment of head & neck cancer 2010 10/28-30; Arlington, VA

[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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

益田 宗幸 (MASUDA MINEYUKI)  
九州大学医学研究院・研究員  
研究者番号：90284504

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

酒々井 真澄 (SUZUI MASUMI)  
名古屋市立大学 教授  
研究者番号：30347158

藤井 正人 (FUJII MASATO)  
独立行政法人国立病院機  
東京医療センター臨床研究センター  
研究者番号：70129633