

## 論文の要旨

申請者 上出 大介

### 研究論文題目

AP-1 阻害剤を用いた頭頸部癌頸部リンパ節転移抑制治療

#### 1. 背景と目的

頭頸部扁平上皮癌は世界で7番目に多い癌であり、近年の化学療法、放射線療法など集学的治療の進歩により局所制御率の向上が得られつつあるが、いまだ5年生存率が50～60%と予後不良な疾患である。頸部リンパ節転移は最も重要な予後規定因子の一つとされており、その機構の解明のみならず、効果的に制御、抑制する手段の確立が頭頸部癌治療の領域において最も重要なテーマの一つとされる。近年、腫瘍の転移の過程において転写因子である activator protein-1 (AP-1) が浸潤、遊走などの制御に関わる多くの遺伝子の転写を介して転移に重要な働きを有することが明らかになってきた。AP-1 は頭頸部癌のほか多くの悪性腫瘍においてその発現や転写活性が上昇していることが知られていることから、転写因子 AP-1 による転写活性を抑制することが腫瘍の転移を抑制する新しい治療につながる可能性がある。本研究では、AP-1 阻害効果を有する新しい薬剤である T-5224 を用いて、腫瘍細胞において浸潤、遊走抑制効果に関する基礎的な検討を行ったうえで、頭頸部癌ヌードマウスモデルを用いた転移抑制効果を検証した。

#### 2. 対象と方法

##### ① 頭頸部扁平上皮癌細胞株における AP-1 発現の検討

異なる転移能を有する頭頸部扁平上皮癌細胞株を用いて、AP-1 を構成する蛋白の発現をウェスタンブロット法により比較検討した。

##### ② 頭頸部扁平上皮癌細胞株における AP-1 阻害剤の増殖、浸潤、遊走能に与える影響の検討

AP-1 阻害剤 T-5224 が頭頸部扁平上皮癌細胞株の増殖能、浸潤能、遊走能および細胞形態に与える影響を *in vitro* にて検討した。

##### ③ 頭頸部扁平上皮癌動物モデルの作製と AP-1 阻害剤の治療効果

高率転移株である HSC-3-M3 を用い舌癌同所移植ヌードマウスモデルを作製した。同モデルを用いて T-5224 の連日経口投与による頸部リンパ節転移抑制効果を検討した。

##### ④ AP-1 阻害剤による転移抑制機構の検討

T-5224 による AP-1 阻害が転移抑制効果を示した機序を検討するため、AP-1 によって制御を受ける分子のひとつである MMP-2 および-9 の頭頸部

癌細胞における発現の検討、および舌癌同所移植ヌードマウスモデルから採取した舌組織において MMP の活性化部位を *in situ* gelatin zymography にて検討した。

### 3. 結果

- ① 高い転移能を有する細胞株 HSC-3-M3 において c-Jun の高い発現を認めた。T-5224 は AP-1 を構成する蛋白の発現自体には影響を与えなかった。
- ② T-5224 は HSC-3-M3 の浸潤能を濃度依存性に強力に抑制した。同様に HSC-3-M3 および OSC-19 の遊走能を濃度依存性に抑制した。一方で明らかな増殖抑制効果や殺細胞効果は認めなかった。T-5224 は腫瘍細胞における葉状仮足の伸長等を抑制するなど細胞形態に影響を与えることが示された。
- ③ 舌癌同所移植ヌードマウスにおける T-5224 の投与は、腫瘍体積に有意な影響を示さなかったが、頸部リンパ節転移を有意に抑制した。
- ④ T-5224 は HSC-3-M3 培養細胞における MMP-2 および-9 の発現および分泌を有意に抑制した。同所移植した舌腫瘍組織の検討では、腫瘍組織近傍の浸潤先進部において MMP-2 および-9 によるゼラチン分解活性が、T-5224 投与により抑制されることが示された。

### 4. 考察

転移抑制薬は癌治療成績の向上のみならず治療不能例に対する QOL 維持等の観点からも潜在的な需要が高い。過去に MMP 阻害剤が国内外で研究、臨床試験が行われたものの、副作用や効果の不十分さから、現在まで癌治療薬として承認された薬剤は存在しない。MMP は細胞外基質の分解を介して転移において重要な役割を有するが、転移の成立には他にも多くの段階を経る必要があり、それぞれの段階において複数の因子が重層的に関与する。したがってこれら多段階的かつ重層的な転移の機構を制御することが転移抑制剤開発の鍵となる。本研究において AP-1 阻害剤 T-5224 は MMP-2 および-9 の発現抑制のみならず、細胞骨格への作用等を通じて腫瘍細胞の活発な運動能を直接阻害し、かつ動物モデルにおいて有意にリンパ節転移を抑制した。AP-1 は MMP 以外にも浸潤や転移に関わるシグナル伝達経路、細胞骨格や細胞接着因子などそれぞれにおいて数多くの遺伝子を制御するとされていることから、AP-1 阻害剤はこれまで困難であった転移抑制を効果的に発揮する可能性が高いと考えられる。本薬剤はすでに関節リウマチに対する抗炎症薬として臨床試

験が実施されヒトへの投与の安全性も確立している。今後、癌治療の分野においても安全な転移抑制薬として臨床応用が期待できる。

## 5. 結論

- ① 頭頸部扁平上皮癌細胞株における AP-1 発現の検討の結果、高い転移能を有する HSC-3-M3 において AP-1 の構成蛋白 c-Jun の高発現を認めた。
- ② AP-1 阻害剤 T-5224 は腫瘍細胞に対して細胞増殖抑制効果は有さないものの、浸潤、遊走に対する強い抑制効果を示した。また腫瘍細胞および舌腫瘍組織において MMP-2 および-9 の発現を抑制した。
- ③ 舌癌同所移植ヌードマウスモデルにおいて、T-5224 経口投与により頸部リンパ節転移を有意に抑制した。
- ④ T-5224 は頭頸部扁平上皮癌に対する安全性の高い転移抑制薬として今後の臨床応用が期待される。