

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
(自 署)	研究指導
(自 署)	
(自 署)	

学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

教育研究分野 口腔顎顔面外科学	身分 大学院生	氏名 大道 培
論 文 題 名 口腔扁平上皮癌におけるインテグリン $\alpha\text{v}\beta 5$ の発現と腫瘍浸透ペプチド iRGD による抗腫瘍効果の解析		
論文内容の要旨（2000字程度） 緒言：口腔扁平上皮癌における化学療法はkey drugはシスプラチン(CDDP)であるが、腎毒性があるため腎機能低下を有する症例では適応困難であり、また腎毒性により治療が中断されることも少なくない。これに代わる治療法は未だ限られており、より効果的かつ安全性の高い治療戦略の開発が求められている。腫瘍組織におけるインテグリン$\alpha\text{v}\beta 5$の発現は膵管腺癌や肺扁平上皮癌で予後不良因子と報告されているが、口腔扁平上皮癌ではその役割は明らかでない。腫瘍浸透ペプチドiRGDは膵管腺癌におけるインテグリン$\alpha\text{v}\beta 5$を標的として作られたペプチドであり、iRGDと共に投与した薬剤の腫瘍組織への浸透を促進する。本研究では、口腔扁平上皮癌細胞におけるインテグリン$\alpha\text{v}\beta 5$発現と予後との関連などの未だ解明されていない基礎的事項を明らかにし、CDDP単独療法とiRGD併用療法における抗腫瘍効果の差異を<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>で検討し、iRGDによる口腔扁平上皮癌に対する新たな治療法の可能性を検討することを目的とした。 方法：当科で手術を施行した口腔扁平上皮癌の切除標本を用い、免疫組織化学染色を行った。マウスおよびヒトの口腔扁平上皮癌細胞株を培養し、インテグリン$\alpha\text{v}\beta 5$の発現解析を行った。さらにインテグリン$\alpha\text{v}\beta 5$陽性のマウス口腔扁平上皮癌細胞株SCC7を用いて、CDDP単独またはCDDPおよびiRGD処理を行い、細胞増殖能、細胞代謝の評価、アポトーシス誘導の解析を行った。また、マウス背部にSCC7を移植し、CDDP単独またはCDDPおよびiRGDの投与を行い、経時的に腫瘍径を測定し、抗腫瘍作用を評価した。 結果： 1. 口腔扁平上皮癌切除標本におけるインテグリン$\beta 5$の発現 当科で手術を施行した口腔扁平上皮癌の切除標本を用いて、インテグリン $\beta 5$ の発現について解析したところ、ほとんどの切片においてインテグリン $\beta 5$ の発現が認められた。また、染色切片を低発現群と高発現群に分けて、Kaplan-Meier 解析を行ったところ、インテグリン $\beta 5$ 高発現群は低発現群と比較して5年生存率が低い傾向を示した。		

論文内容の要旨（2000字程度）

2. マウス口腔扁平上皮癌細胞株，ヒト口腔扁平上皮癌細胞株におけるインテグリン $\alpha v\beta 5$ の発現解析

口腔扁平上皮癌細胞株におけるインテグリン $\alpha v\beta 5$ の発現解析を，マウス口腔扁平上皮癌細胞株 (SCC7, MOC1, MOC2) およびヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (HSC-2, HSC-3, HSC-3M3, HSC-4, SAS) を用いて実施した．インテグリン $\alpha v\beta 5$ 複合体はインテグリン αv サブユニットと $\beta 5$ サブユニットで構成されており，インテグリン $\beta 5$ は αv とのみヘテロダイマーを形成して機能する．そのため，最初にインテグリン $\beta 5$ の発現をウェスタンブロッティング法で確認したところ，すべての細胞株で発現を認めた．一方，インテグリン $\alpha v\beta 5$ 複合体の発現をフローサイトメトリーで解析したところ，陽性と陰性の細胞株を認めた．また，蛍光免疫細胞化学染色においてはフローサイトメトリーと同様に，SCC7では陽性であったが，MOC2では陰性を示した．さらに同じ細胞株でも発現強度の差を認め，インテグリンは接着分子であることから，経時的に変動する可能性を考えた．そこで，インテグリン $\beta 5$ の発現をウェスタンブロッティング法でSCC7において経時的解析を行った結果，培養初期では弱く，時間経過とともに増強を認めた．

3. インテグリン $\alpha v\beta 5$ 陽性細胞株に対するCDDPおよびiRGD併用による抗腫瘍効果の評価

インテグリン $\alpha v\beta 5$ 陽性細胞であるSCC7細胞を用いて，CDDP単独またはCDDPおよびiRGD処理を行い，*in vitro*で細胞増殖能，細胞代謝の評価，アポトーシス誘導を評価した．細胞増殖解析において，低濃度CDDP条件下ではiRGD併用培養により細胞増殖能の低下を認め，MTTアッセイでは細胞代謝の低下が確認された．また，cleaved-caspase 3発現の増強からアポトーシスが促進されることが示された．

4. 癌細胞株皮下移植マウスモデルにおけるCDDPおよびiRGD併用による抗腫瘍増強作用の有無

C3H/HeNjclマウスの背部にSCC7を移植し，マウス腫瘍モデルを作製した．その後7日目からCDDP (5mg/kg/week)を腹腔内投与し，同時にiRGD (300 μ g/25g/week)を静脈投与した結果，CDDP単独群はPBS群に比べ有意な抗腫瘍効果を示し，さらにiRGD併用群ではCDDP単独群と比較し，より強い抗腫瘍効果を示した．

考察：本研究では，マウスおよびヒト口腔扁平上皮癌細胞株，さらに臨床検体においてインテグリン $\alpha v\beta 5$ の発現を確認した．インテグリン $\beta 5$ においては，SCC7では経時的に増強することを示した．これはインテグリン $\alpha v\beta 5$ が腫瘍進展や細胞生存に関与する可能性を示唆する．機能解析では，CDDPおよびiRGDの併用により細胞増殖抑制とアポトーシスの促進が増強された．また，マウス腫瘍モデルにおいてCDDPおよびiRGD併用療法で有意な抗腫瘍作用を認めた．以上より，iRGDによる臨床応用が可能となれば，副作用を抑えつつ，より強い抗腫瘍作用を有する治療の選択肢が広がる可能性が期待できる．