

(第3号様式)

学位論文要旨

氏名 岩本和樹

論文名

リボヌクレオチドリダクターゼ M2 は口腔扁平上皮癌治療における有力な治療標的分子である

学位論文要旨

口腔癌のみならず様々な癌腫において癌関連遺伝子の異常が癌細胞の増殖能や遊走能、浸潤能といった悪性形質を支持していることが知られている。また頭頸部扁平上皮癌において epidermal growth factor receptor (EGFR) の高発現が予後不良因子である報告がある。局所進行症例あるいは再発・転移症例に EGFR を治療標的とした Cetuximab (Cmab) を用いた化学放射線併用療法あるいは白金製剤との併用化学療法により局所制御率および全生存率の改善が報告されている。しかしながら、現在口腔扁平上皮癌患者に適応のある分子標的薬は Cmab のみであり、今後新たな治療標的分子の探索が急務となっている。近年、われわれはマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析により口腔扁平上皮癌治療に有用な標的分子の探索を行ってきた。その過程で、ヒト正常表皮角化細胞 (HaCaT) と比較してヒト口腔扁平上皮癌細胞株 (GFP-SAS、Ca9-22、HSC2、HSC3、HSC4、SCC111、SCC66、SCC9、SCC25) 9 種に共通して発現亢進する癌関連遺伝子として Ribonucleotide Reductase M2 (RRM2) を同定した。そこで、本研究では RRM2 が、口腔扁平上皮癌の治療標的分子として有用であるかどうか検討を行った。まず、ヒト口腔扁平上皮癌細胞 (GFP-SAS、Ca9-22、HSC2、HSC3) とヒト正常口腔粘膜由来初代培養細胞、ヒト口腔扁平上皮癌腫瘍組織と隣接正常口腔粘膜組織における RRM2 タンパク質の発現をウェスタンブロッティング法で確認した。その結果、ヒト口腔扁平上皮癌細胞とヒト口腔扁平上皮癌腫瘍組織において RRM2 の高発現を認めた。続いて、RRM2 に対する特異的な合成 small interfering RNA (siRRM2) と RRM2 を標的分子とする代謝拮抗薬である Gemcitabine (GEM) を用いて RRM2 の機能阻害を行い、ヒ

氏名 岩本和樹

ト口腔扁平上皮癌細胞およびヒト口腔扁平上皮癌由来初代培養細胞の細胞増殖における影響を評価した。それぞれの細胞を 96 穴プレートに播種し、合成 siRNA を 5 nM の濃度でリポフェクション法を用いてリバーストランスフェクションし、72 時間後に WST-8 アッセイで細胞増殖抑制効果の評価を行った。また、GEM は細胞を播種して 24 時間後から 0, 10, 100, 1000 nM の濃度で 48 時間暴露させた後に評価した。いずれの細胞においても、siRRM2 導入群はコントロール群と比較して RRM2 タンパク質の著明な発現低下を認め、54.8% 以上の細胞増殖抑制効果を認めた。また、GEM で処理すると濃度依存的に細胞増殖抑制効果を認め、1000 nM では 83.0% 以上の増殖抑制を認めた。さらに、口腔扁平上皮癌患者由来腫瘍組織 25 検体を用いて GEM および口腔扁平上皮癌の治療に一般的に用いられている抗癌薬である Cisplatin (CDDP)、5-fluorouracil (5-FU)、Docetaxel (DOC) の抗腫瘍活性を Collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST) 法による抗癌剤感受性試験で評価した。抗癌剤感受性試験の結果、GEM は DOC と同程度かつ、CDDP と 5-FU より高い抗腫瘍活性を認めた。しかしながら、GEM 感受性と RRM2 mRNA の発現量の間に関連関係は認めず、口腔扁平上皮癌において GEM は RRM2 の発現量に関係なく高い感受性を示した。以上の結果から、RRM2 は口腔扁平上皮癌の増殖を支持しており、GEM に代表される RRM2 を標的とする分子標的治療が口腔癌の新規治療戦略となる可能性が示唆された。

キーワード (3~5)	リボヌクレオチドリダクターゼ M2 ゲムシタビン 口腔扁平上皮癌 抗癌剤感受性試験
-------------	--