HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	オステオポンチンの発現は口腔癌患者のシスプラチンに対する抵抗性の予測因子となりうる［全文の要約］
Author(s)	上田, 倫弘
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	乙第7012号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/66162
Type	doctoral thesis
File Information	Michihiro_Ueda_summary.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要約

学位論文題目

Resistance of oral squamous cell carcinoma to cisplatin is predicted by increased expression of osteopontin

（オステオポンチンの発現は口腔癌患者のシスプラチンに対する抵抗性の予測因子となりうる）

博士の専攻分野名称　　博士（歯学）　　氏名　上田倫弘

口腔癌は全悪性腫瘍のなかで 1～3%と比較的発生率が低い癌であるが、口腔は咀嚼、嚥下、発音など QOL に重要な器官であることから、口腔に癌が発生することにより口腔機能に重大な支障を伴う。さらに口腔癌は根治性の観点から広範囲な外科的切除が標準治療とされ、口腔機能のみならず審美性にも大きな影響を及ぼす。近年、癌を縮小あるいは消失させて口腔の機能温存を期待する放射線化学療法を併用する症例が増加している。シスプラチンは化学療法の中心的薬剤の一つで、分裂期の DNA と複合体を形成し細胞機能を阻害する。癌細胞は正常細胞に比べ分裂活性が高いことから、シスプラチンが癌細胞の DNA と結合することによって癌細胞を死滅させる。しかしシスプラチンに対して抵抗性を示す癌の存在が化学療法の障害となっている。シスプラチンを始めとした化学療法の感受性の有無を治療前に評価することは困難であるが、不必要な治療や予期せぬ副作用を避けるためにも、抗癌剤に対する感受性を予測できるシステムの構築は大きな意義を持つ。本研究は、シスプラチンを用いた化学療法前にその効果を予測することを目的として行われた。

抗癌剤に対する抵抗性の原因として、耐性遺伝子の発現上昇が知られている。これまでにもシスプラチン耐性遺伝子に関する研究は行われ、数種の耐性遺伝子が同定されたものの、実際の臨床に於いて術前に耐性の有無を評価できる有用なマーカー遺伝子は未だに明らかではない。これまで行われてきた耐性遺伝子の研究は、培養細胞に抗癌剤を暴露させその濃度を徐々に上昇させることで耐性株を樹立し、親株との遺伝子発現や薬物動態を比較検討する実験方法がほとんどであり、癌細胞がもっている本来の形質に加えて癌細胞が抗癌剤に暴露されたときに反応性に発現が上昇する遺伝子である獲得性耐性遺伝子をみているためではないかと著者は考えた。抗癌剤の感受性の有無を術前に把握するためには癌細胞内で本質的に発現が高く、耐性に寄与する遺伝子である内因性耐性遺伝子を同定できる方法が必要であると考え、シングルセルクローニング法により数種の内因性耐性遺伝子候補を明らかにした。

内因性耐性遺伝子候補の一つとしてオステオポンチン（OPN）が同定された。AKT は細胞増殖、成長、生存、および抗アポトーシスなど重要な機能に関わっている細胞内シグナル伝達タンパクで、リン酸化されることで活性化する。口腔扁平上皮癌細胞株 HSC-3 細胞に OPN 発現プラスミドあるいはコントロールベクターを細胞に遺伝子導入し、シスプラチン処理による AKT のリン酸化とアポトーシス誘導にはたらく PARP の活性化について検討した。シスプラチン処理によりコントロール細胞では活性型 PARP の発現が亢進し AKT のリン酸化が抑制されていたが、OPN 導入細胞では活性型 PARP の発現が抑制され、AKT のリン酸化はシスプラチン存在下でも抑制されなかった。

次に患者から採取した口腔扁平上皮癌組織での OPN の発現と、シスプラチンを用いた放射線化学同時療法の効果との関連性について検討した。恵佑会札幌病院で口腔扁平上皮癌と診断された 37 例から生検時に癌組織を採取し mRNA を抽出して実験に用いた。症例の内訳は、T 分類では T2 10 例、T3 2 例、T4 25 例、N 分類では N0 14 例、N1 1 例、N2 が 18 例、ステージ分類では、Stage Ⅱ 5 例、Stage Ⅲ 3 例、Stage IV が 29 例で進行例が多かった。シスプラチンを用いた動注化学放射線同時療法を受けた患者は 21 名、静注化学放射線同時療法を受けた患者は 16 名であった。化学・放射線併用療法（CCRT）により原発腫瘍が消失した CR 群は 14 例、癌が残存あるいは再発した non-CR 群は 23 例であった。

OPN mRNA 発現量を real time RT-PCR にて測定し、内因性コントロールとして用いた GAPDH mRNA の発現量との相対値を OPN mRNA の発現量とした。ROC 曲線解析より OPN 高発現と低発現に分類したところ OPN 低発現群は 27 例、OPN 高発現群は 10 例だった。オステオポンチン mRNA の発現と臨床的背景因子との関連では、年齢、部位、ステージ、大きさ、リンパ節転移に有意な関連性はみられなかったが、CCRT の効果について検討したところ、オステオポンチン低発現群では 27 例中 14 例で癌が消失したのに対し、高発現群では 10 例すべてに残存・再発がみられ、オステオポンチン高発現症例では低発現症例に比べ、有意にシスプラチンに対する感受性が低いことが明らかとなった。

本研究の結果は、生検組織における OPN mRNA 発現解析により、シスプラチンによる化学療法の効果を術前に把握できる可能性を示唆するものだった。