

氏名(本籍) : 佐藤友規

学位の種類 : 博士(歯学) 学位記番号 : 歯博第409号

学位授与年月日 : 平成19年3月27日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科(博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Sequence-dependent interaction between cisplatin and histone deacetylase inhibitors in human oral squamous cell carcinoma cells  
(ヒト口腔扁平上皮癌においてシスプラチンとヒストン脱アセチル化阻害剤との間には投与方法に依存した相互作用がある)

論文審査委員 : (主査) 教授 越後成志

教授 高田春比古 教授 小関健由

## 論文内容要旨

癌治療に対する化学療法の中で、複数の抗癌剤による併用療法は最先端の治療法の1つである。異なる標的をもった抗癌剤の併用は、治療の有効度を上昇させ、副作用を減少させることができる可能性を持っている。シスプラチン(CDDP)はDNAを標的とした抗癌剤で、頭頸部領域における悪性腫瘍に対して大変有効な抗癌剤であるが、副作用が強いことや耐性の出現など様々な問題がある。一方、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤は、DNAのコアヒストンの高アセチル化を誘導し、クロマチン構造を緩め、様々な癌抑制遺伝子を活性化することにより、抗癌作用を示すことが証明された新しいタイプの抗癌剤である。この2つのタイプの抗癌剤を併用することで、顕著な抗癌効果の上昇が認められたので、本論文ではこの増強効果の機序を解析し、最も効果的な投与方法を検討した。

実験は、頭頸部扁平上皮癌由来の細胞株HSC-3を用い、HDAC阻害剤としてsodium butyrate(NaB), suberoylanilide hydroxamic acid(SAHA), MS-275を使用し、これらの阻害剤とCDDPを併用した時の細胞毒性の変化をMTT法、アポトーシスの変化をTUNEL法にて検討した。さらに、細胞周期、活性酸素およびcaspaseの役割についても検討した。主な実験の結果をまとめると、

- ① CDDP, HDAC阻害剤併用時の $IC_{50}$ 濃度(50%有効阻害濃度)は、CDDP単独時と比較して3~10倍低下した。HDAC阻害剤単独では細胞毒性はほとんど観察されなかった。
- ② 細胞周期で、CDDP単独およびNaBとの併用の両者ともにG0/G1期停止が観察された。
- ③ 活性酸素はCDDP単独処理時で誘導されたが、併用時にはさらに多くの増加が認められた。
- ④ CDDP誘導caspase-3活性が、NaB処理により増強された。
- ⑤ 投与順はCDDPとHDAC阻害剤の同時処理およびHDAC阻害剤で後処理した場合に効果が高く、HDAC阻害剤を前処理した場合は、増強効果は認められるものの前者と比較すると弱かった。

以上のことから HDAC 阻害剤による CDDP の抗腫瘍効果の増強は、CDDP 処理により G0/G1 期細胞が増加し、HDAC 阻害剤が G0/G1 期細胞に特異的に作用することが機構の 1 つであると考えられた。また、活性酸素の増加に伴いミトコンドリア損傷が増加すること、および caspase-3 活性の上昇などもアポトーシス誘導に深く関与していることが示唆された。

CDDP と HDAC 阻害剤の併用療法は、低濃度の CDDP でも高い治療効果が得られるため、副作用を軽減できる可能性を持つとともに、HDAC 阻害剤の作用機構から考えると耐性癌にも有効である可能性が高い。これらの研究結果を総合すると、この併用療法は将来的に臨床応用できる有望な方法であると考えられる。

## 審 査 結 果 要 旨

本研究は、頭頸部悪性腫瘍に対して臨床使用されているシスプラチン (CDDP) とヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC 阻害剤) との併用により生じる抗腫瘍効果の増強について、頭頸部悪性腫瘍由来の細胞株を用いて詳細に解析したものである。

頭頸部悪性腫瘍に対する化学療法では、CDDP は現在臨床での使用頻度も高く有効な薬剤の 1 つである。しかしながら、CDDP の問題点として深刻な副作用 (腎障害、骨髄抑制、聴覚障害など)、および薬剤耐性の出現などが挙げられ、その対策として現在まで様々な併用療法が検討されてきている。本論文は、CDDP との併用薬剤として HDAC 阻害剤を用いた新しい併用療法の報告である。そして、CDDP と HDAC 阻害剤の併用により誘導される顕著な抗腫瘍効果の増強について、舌癌由来の細胞株 HSC-3 を用いてその作用機序および投与方法について詳細に解析している。

本論文によると、(1) HDAC 阻害剤単独では細胞に毒性を示さない濃度で使用しているにも関わらず、CDDP と併用した時に顕著な抗腫瘍効果の増強が認められたこと、(2) CDDP 処理により細胞周期の G0/G1 期停止が起こり、G0/G1 期細胞が増加すること、(3) CDDP と HDAC 阻害剤の併用により活性酸素の生成が増加したこと、(4) CDDP が誘導する caspase-3 活性が HDAC 阻害剤を併用することによりさらに増強し、caspase-3 の阻害剤である DEVD-fmk で処理するとアポトーシスが減少したこと、(5) 投与方法は CDDP と HDAC 阻害剤の投与順を前後 24 時間と同時の 3 通りで検討しているが、同時投与と HDAC 阻害剤で処理し、24 時間後に CDDP を投与した場合に特に有効であり、HDAC 阻害剤で 24 時間前に処理した場合はその効果が若干弱いこと、などについて報告している。

以上のように HDAC 阻害剤による CDDP の抗腫瘍効果の増強は、CDDP 処理により G0/G1 期細胞が増加し、HDAC 阻害剤が G0/G1 期細胞に特異的に作用することがその増強機構の 1 つであることを示唆している。また、活性酸素の増加に伴いミトコンドリア損傷が増加すること、および caspase-3 活性の上昇などもアポトーシス誘導に深く関与していることを明らかにした。この併用により抗腫瘍効果が顕著に増強することから、CDDP の濃度をさらに低くすることも可能であると考えられ、それにより副作用を減少させることができる可能性を示唆している。さらに、CDDP 耐性癌に対しても有効である可能性をも示唆しており、今後のさらなる研究・臨床応用に期待できる方法であると思われる。

このように本論文では、頭頸部悪性腫瘍の化学療法における新たな併用療法の可能性を提示したものであり臨床応用するにあたり有用な情報をもたらしたものと思われる。よって本論文は博士 (歯学) の学位授与に値するものと認める。