

# 学位論文抄録

口腔扁平上皮癌の5-FU耐性機構についての研究  
—5-FU耐性と予後におけるcIAP2の役割—

(Investigation of the mechanism underlying 5-FU resistance in oral squamous cell carcinoma -the role of cIAP2 for 5-FU resistance and prognosis-)

永田 将士

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻顎口腔病態学

指導教員

篠原 正徳 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻顎口腔病態学

## 学位論文抄録

〔目的〕 5-fluorouracil (5-FU) 耐性は口腔扁平上皮癌 (Oral squamous cell carcinoma : OSCC) の治療において大きな障壁となる。しかしながら、OSCCにおいて 5-FU 耐性に寄与するアポトーシス耐性機構についてはほとんど知られていない。今回我々は、5-FU 耐性株を樹立し、その耐性機構について研究を行った。

〔方法〕 我々は OSCC 細胞株 SAS を用いて、持続的に低濃度の 5-FU を投与することにより、5-FU 耐性株 (SAS/FR2) の樹立を行った。次に、親株と耐性株を用いて DNA マイクロアレイ解析を行った結果、アポトーシス阻害蛋白である cellular inhibitor of apoptosis protein 2 (cIAP2) が有意に発現上昇していたため、OSCC の 5-FU 耐性における cIAP2 の機能解析のための *in vitro* の研究を行った。

まず、耐性株 (SAS/FR2) の 5-FU 処理によるアポトーシスとその制御タンパクである caspase 活性の親株との比較を行った。次に、siRNA を用いて cIAP2 の発現抑制を行い、5-FU 感受性や caspase の活性およびアポトーシスの変化を調べた。

次に、実際の患者検体における cIAP2 発現と 5-FU 感受性の関連性を解析した。5-FU 系の抗がん剤である TS-1® (S-1) を用いた術前化学放射線療法を施行した 54 例の OSCC 患者の生検標本を使用し、免疫組織化学的染色にて cIAP2 とその関連分子である cIAP1、X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) の発現を評価し、予後や各種臨床パラメータとの関連性を解析した。

〔結果〕 親株と耐性株の細胞増殖速度には有意な差は認めず、耐性株の 5-FU 投与への耐性度は親株の 8.6 倍であった。

次に、耐性株は 5-FU 処理によって親株と比べアポトーシスに耐性を示し、アポトーシス制御タンパクである caspase 活性が低下していた。また、cIAP2 の発現抑制は 5-FU 感受性を有意に増加させ、著明な caspase 活性の上昇およびアポトーシスの増加を認めた。

OSCC 検体を用いた免疫組織化学的研究の結果、cIAP2 の発現と S-1 併用化学放射線療法の組織学的治療効果との間に有意な負の相関を認めた。さらに、多変量解析を行なった結果、OSCC 患者において、cIAP2 の発現と化学放射線療法の治療効果が有意に予後と相関した。

〔考察〕 OSCC 細胞株にて 5-FU 耐性株を樹立したのはわれわれが初めてである。また、耐性株と親株の遺伝子発現解析において cIAP2 が過剰発現していた所見は cIAP2 が 5-FU 感受性に関わる新たなターゲットになりうるという点で注目すべき結果である。

今回の *in vitro* のデータにて、5-FU 耐性細胞は cIAP2 の発現が増加しており、5-FU 暴露によるアポトーシスからの回避によって、耐性に寄与していることが示唆された。本研究は口腔癌における 5-FU 耐性と cIAP2 の発現上昇との関連を示した最初の報告である。

5-FU をベースとした化学放射線療法の治療効果と有意な相関関係を示したものは、cIAP2 の発現レベルのみであり、多変量解析においても治療効果と cIAP2 のみが予後因子となった。これらの結果は、腫瘍や細胞の種類によって個々の IAP が、アポトーシス耐性への関わり方や、異常なシグナル経路への関わり方に、それぞれの違いを有することを示唆している。

〔結論〕 腫瘍内の cIAP2 の発現は 5-FU 感受性のバイオマーカーとなりうることを示唆され、5-FU の効果を増強させ、予後を改善するための治療標的となりうると思われた。