

Title	マウス舌癌同所移植モデルを用いたMMP阻害剤ONO-4817の頸部リンパ節転移抑制効果
Sub Title	
Author	山下, 拓
Publisher	慶應医学会
Publication year	2004
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.37-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0037">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0037</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

# マウス舌癌同所移植モデルを用いた MMP阻害剤ONO-4817の頸部リンパ節転移抑制効果

山下 拓

## 内容の要旨

【背景】頸部リンパ節転移は舌扁平上皮癌の予後因子のひとつであり、臨床でその治療に難渋することも多い。現在においても頸部リンパ節転移の制御率の改善は、舌扁平上皮癌の治療成績向上における重要な課題である。癌のリンパ節転移成立過程において細胞外マトリックスの分解は必須であり、その分解を担う酵素がMatrix metalloproteinase (以下MMPと略)である。したがってMMP阻害剤がリンパ節転移抑制に寄与する可能性があり、以下の実験を行った。

【実験方法および結果】実験1：頸部リンパ節への高転移能を有するヒト舌扁平上皮癌由来細胞株HSC-3-M3に対するMMP阻害剤ONO-4817の細胞増殖に及ぼす影響をMTT assayにより検討した。その結果、*in vitro*においてONO-4817はHSC-3-M3に対して100 $\mu$ Mの濃度まで殺細胞効果を有しなかった。

実験2：*in vitro*におけるONO-4817のMMP-2、MMP-9活性抑制効果を検討するため、HSC-3-M3をヌードマウスへ同所移植後3週経過した舌癌組織のホモジネート上清を用いてGelatin zymographyを行った。その結果、MMP-9のゼラチン分解活性は*in vitro*においてONO-4817により濃度依存性に阻害された。コントロールのMMP-9活性を100%とすると1nM、3nM、10nM、30nM ONO-4817添加時のそれぞれの活性は86%、64%、36%、12%であった。

実験3：HSC-3-M3をマウス舌へ同所移植し、移植翌日から治療群にはONO-4817を150mg/kgを、対照群には溶媒のみを1日2回経口投与し、28日後に犠牲死させた。*in vivo*におけるONO-4817のMMP-2、MMP-9活性抑制、ゼラチン分解抑制効果を検討するためGelatin zymography、Film *in situ* zymography (以下FIZと略)を行い比較した。また体重変化、頸部リンパ節転移の有無を比較した。Gelatin zymographyの結果、対照群に比較し、治療群の舌癌組織においてMMP-9活性化率の低下が認められた。FIZの結果、対照群の舌癌組織に一致して強いゼラチン分解活性が認められたのに対して、治療群では著しく抑制された。また第21日と第28日での体重の比較では、治療群において有意にマウスの体重減少が抑制された。頸部リンパ節転移は治療群の13.3% (15匹中2匹)、対照群の60.0% (15匹中9匹)に認められ、2群間で統計学的有意差を認めた ( $p=0.0209$ )。

【結論】舌扁平上皮癌の頸部リンパ節転移がMMP阻害剤ONO-4817により抑制されることが示された。その機序の一部と考えられる*in vitro*、*in vivo*での細胞外マトリックス分解抑制効果が確認された。これらの結果は、MMP阻害剤が舌扁平上皮癌の付加的治療手段の1つになりうることを示唆するものである。

## 論文審査の要旨

頭頸部癌の頸部リンパ節転移の有無とmatrix metalloproteinase (MMP)-2、MMP-9の発現、活性化が相関するとの報告が多くみられる。しかし、これらMMPの活性阻害により頭頸部癌の頸部リンパ節転移が抑制されることを示した報告はない。そこで本研究では、MMP阻害剤の頸部リンパ節転移に対する効果をヌードマウス舌癌同所移植モデルを用いて検討した。その結果、MMP阻害剤ONO-4817の投与で、頸部リンパ節転移が抑制できること、末期におけるマウスの体重減少が抑制されることが示された。Gelatin zymographyの結果、直接的なMMP-9活性の抑制と*in vivo*におけるMMP-9活性化率の抑制が認められた。また、film *in situ* zymographyの結果、舌癌組織でのゼラチン分解活性の著明な抑制が認められた。以上より、癌局所の細胞外マトリックス分解抑制がリンパ節転移抑制効果に寄与していることが示唆された。

審査では、まず同所移植の部位についての質問があり、これに対して、移植は左舌縁から筋層内に行われたこと、したがって本モデルでは上皮下の基底膜浸潤の抑制が転移抑制の機序として働いているかは検討できないとの回答があった。さらに、不完全ではあるが毛細リンパ管周囲に存在する基底膜への浸潤阻害や、基底膜以外の細胞外マトリックス分解抑制が転移抑制の機序として働いていることが示唆されたとの考察が述べられた。次に、薬剤の投与量について、150mg/kgとするとヒトではかなりの投与量となるが、この量にした根拠について問われた。本薬剤のマウスでの投与量と血中濃度、組織内濃度との関連についての報告がないため至適投与量を決定するのは困難であるが、文献的に本薬剤のマウスでの実験の報告を参考に投与量を決定したとの回答があった。使用した細胞株が一つでは不十分ではないかとの質問に対しては、ヒト舌癌の細胞株のうち動物実験モデルで頸部リンパ節転移を高率に示すものが少なく、本モデルでの検討に適する細胞株がほとんどないと回答された。また、治療群のマウスと対照群のマウスで舌癌局所の潰瘍形成に差を認めた理由が質問され、同所移植は筋層内に行われたため、筋層から基底膜への逆行性の浸潤を抑制した可能性があるとの回答された。舌癌局所の比較方法について、否全体の重量の比較や脈管密度の比較も行う必要があること、このようなモデルでの局所と頸部リンパ節転移果での分子生物学的な比較の報告が少なく検討すべきことの助言があった。また、臨床応用についての質問がなされたが、本薬剤が殺細胞効果を認めない抗転移薬である点から、早期の癌に対する転移予防として、あるいは術後の再発予防としての応用が期待できると回答された。

以上のように本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、MMP阻害剤が頭頸部癌の頸部リンパ節転移を抑制できることを示し、新しい治療法の可能性を示唆した点で臨床的にも有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 耳鼻咽喉科学 小川 郁  
病理学 坂元 亨宇 病理学 岡田 保典  
歯科・口腔外科学 中川 種昭  
学術確認担当者：北島 政樹、坂元 亨宇  
審査委員長：坂元 亨宇

試問日：平成16年 7月 2日