

指 導 教 授 氏 名	指 導 役 割
印	
印	
印	

## 学 位 論 文 要 旨

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野口腔顎顔面外科学	身分 大学院生	氏名 清水 理恵子
<p>論 文 題 名 The role of nicotine in metastasis and anticancer drug resistance of head and neck squamous cell carcinoma (頭頸部扁平上皮癌の転移と抗癌剤耐性におけるニコチンの役割)</p>		
<p>論文内容の要旨 (2000字程度)</p> <p><b>【緒言】</b></p> <p>タバコの主要成分の1つであるニコチンは、喫煙により肺胞や口腔粘膜から吸収され、血液中に移行する。血液中のニコチンは、中枢神経系のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) に結合し、タバコ依存に関与する。nAChRは中枢神経系を中心に、癌細胞を含む様々な非神経細胞にも存在することが明らかとなった。最近の研究ではニコチンがnAChRを介し、乳癌や肺癌の転移と抗癌剤耐性に寄与することが報告されている。しかしタバコ煙に最初に曝露される頭頸部領域においては、ニコチン-nAChRのシグナル伝達を利用し、転移および抗癌剤に対する耐性を獲得できるかどうかは不明のままである。よって本研究では頭頸部扁平上皮癌 (HNSCC) 細胞の転移と抗癌剤耐性におけるニコチンの役割について検討した。</p> <p><b>【方法と結果】</b></p> <p>1) 頭頸部扁平上皮癌細胞における nAChR の発現</p> <p>頭頸部扁平上皮癌細胞株である HSC-2, HSC-3, OSC-19, OSC-20 及びヒト臍帯静脈内皮細胞(HUVEC)における nAChR の発現をウエスタンブロット法を用いて検討した。いずれの細胞株においても陽性対照群である HUVEC よりも強い nAChR の発現を認めた。</p> <p>2) ニコチンが頭頸部扁平上皮癌細胞に与える影響</p> <p>In vitro では HSC-3 細胞, OSC-19 細胞の培養液中に nAChR の非選択的阻害薬であるメカミラミン塩酸塩(MCA), <math>\alpha 7</math> 選択的阻害薬である <math>\alpha</math>-ブンガロトキシン(<math>\alpha</math>-BTX), セツキシマブを添加した後に、ニコチンを添加し、cell proliferation assay で増殖能, migration assay で遊走能, invasion assay で浸潤能を評価した。両細胞株においてニコチン投与群が対照群と比べて有意に増殖能, 遊走能, 浸潤能を促進していたが, MCA, <math>\alpha</math>-BTX はその効果を抑制した。MCA, <math>\alpha</math>-BTX のみを投与した群では, 対照群と比べ有意な差を認めなかった。またセツキシマブ投与群は, 対照群と比べ有意に増殖能, 遊走能, 浸潤能を抑制したが, ニコチンはその効果を解消した。</p>		

論文内容の要旨（2000字程度）

### 3) 頭頸部扁平上皮癌リンパ節転移動物モデルにおけるニコチンの影響

ニコチンの頭頸部扁平上皮癌細胞株における腫瘍増殖及びリンパ節転移への影響について、頭頸部扁平上皮癌リンパ節転移動物モデルを作製し、*in vivo*にて検討を行った。BALB/c系 nu/nu マウスの足底皮下に OSC-19 を移植し、連日 MCA, セツキシマブを投与後に、ニコチンを投与し、腫瘍体積を経時的に計測した。ニコチン単体投与群は対照群と比べて有意に腫瘍体積が増大していたが、MCA はその効果を抑制した。またセツキシマブ単体投与群は、腫瘍体積の増大を抑制したが、ニコチンはその効果を減弱した。OSC-19 移植 6 週間後にマウスを屠殺し、移植部と膝下リンパ節を組織学的に検討した。ニコチン単体投与群は対照群に比べて移植部におけるリン酸化 EGFR 核内陽性率の割合が増加していたが、MCA はその効果を抑制した。またニコチン投与群では対照群に比べ、膝下リンパ節への転移の頻度が増加していたが、MCA はその効果を抑制した。セツキシマブ単体投与群とセツキシマブ及びニコチン投与群においては、リンパ節転移を認めなかった。

#### 【考察】

本研究において、ニコチンは頭頸部扁平上皮癌細胞の増殖能、遊走能、浸潤能を有意に促進した。さらにその効果は、nAChRの非選択的阻害剤であるMCAや $\alpha 7$ nAChR選択的阻害剤である $\alpha$ -BTX添加により阻害された。今回、頭頸部扁平上皮癌細胞において $\alpha 7$ nAChRの発現が強く認められた。 $\alpha 7$ nAChRは、肺癌や大腸癌において細胞増殖に関与すると報告されている。ニコチンによる頭頸部扁平上皮癌細胞の増殖能、遊走能、浸潤能の亢進は $\alpha 7$ nAChRを介していることが示唆された。

抗ヒトEGFRキメラ化モノクローナル抗体セツキシマブは、頭頸部癌初の分子標的治療薬として世界的に注目を浴びている。本研究では、セツキシマブによって抑制されていた頭頸部扁平上皮癌細胞の増殖能、遊走能、浸潤能がニコチンによって上昇していた。リンパ節転移動物モデルにおいては、ニコチンは腫瘍を増大させ、リン酸化EGFRの核内移行を促進した。EGFRがニコチンにより核内移行すると、セツキシマブが結合できなくなるため、セツキシマブの抗腫瘍効果を減弱させると推察された。

またリンパ節転移動物モデルにおいて、ニコチンはリンパ節転移を促進した。*in vitro*でもニコチン投与群が対照群と比較して、いずれの細胞株においても増殖能、遊走能、浸潤能を促進していたことから、リンパ節転移の促進は、ニコチンによる細胞活性の上昇によるものと考えられた。

今回nAChR阻害のため使用したMCAは、*in vitro*, *in vivo*ともにニコチンの効果を抑制した。MCAは降圧薬として古くから知られており、安全性が高い。喫煙している頭頸部扁平上皮癌患者の転移抑制や抗癌剤の感受性増強などへの応用、いわゆるドラッグリポジショニングの可能性があると考えられた。