

論 文 内 容 要 旨

Methylation of the CXCL14 promoter region  
affects the anti-tumor activity of cetuximab in  
head and neck squamous cell carcinoma

神奈川歯科大学附属病院 口腔外科

医員 近藤 忠稚

(指 導： 久保田 英朗 教授)

## 論文内容要旨

申請者の所属教室では、EGFR シグナル (RAS-BRAF-MEK 経路) によって発現低下する CXCL14 の抗腫瘍作用についての研究を行ってきた。CXCL14 の抗腫瘍効果は、腫瘍組織内での血管新生抑制効果、腫瘍組織における細胞増殖抑制因子やアポトーシス誘導因子の発現上昇等が考えられている。これまでの研究では、CXCL14 は頭頸部扁平上皮癌で発現低下していること、EGF レセプター阻害薬であるゲフィチニブにより CXCL14 の発現が上昇し、抗腫瘍効果を示すことを見出している。しかし、抗腫瘍作用を有する CXCL14 の発現低下のメカニズムについては、不明であった。

本研究では、頭頸部癌における抗腫瘍性ケモカイン CXCL14 の発現消失の原因として、遺伝子変異ではなく CXCL14 遺伝子のプロモーター領域がメチル化していることを究明し、最近注目されている遺伝子のエピジェネティック異常が腫瘍制御機構に関与している重要な知見を示した。さらに、最近がんの分子標的薬として承認された抗 EGFR 抗体であるセツキシマブが、ゲフィチニブと同様に CXCL14 の発現を上昇させ抗腫瘍効果を示すことを見出した。

研究方法としては CXCL14 を発現している HSC-3 細胞株、発現していない YCU-H891 細胞株について、CXCL14 のプロモーター領域のメチル化の有無をメチレーション特異的 PCR 法 (MSP) ならびにパイロシークエンス法を用いて検討した。その結果、G, C リッチな CXCL14 のプロモーター領域がメチル化されていること、メチル化を脱メチル化剤である 5-アザ-2'-デオキシシチジン (DAC) で解除すると CXCL14 の発現回復が認められることを確認した。また、K-ras のコドン 12, 13 のミューテーションがないことをダイレクトシークエンスで確認し、CXCL14 の発現に関与する RAS-BRAF-MEK 経路は正常に保たれており、メチル化によるエピジェネティック異常が CXCL14 の発現調節に関与していることを確認した。さらに、それぞれの癌細胞株をヌードマウスの背部皮下に移植後、セツキシマブと DAC を単剤で、または併用して腹腔投与し、抗腫瘍効果を判定した。その結果、CXCL14 を発現している HSC-3 細胞株ではセツキシマブ投与により著しい抗腫瘍効果が得られることを確認した。一方、CXCL14 を発現していない YCU-H891 細胞株においては、セツキシマブ単剤では抗腫瘍効果を示さないが、DAC と併用することで CXCL14 の発現が回復し、著しい抗腫瘍効果を発揮することを見出した。

以上の結果から、CXCL14 のプロモーターがメチル化している頭頸部扁平上皮癌では、セツキシマブと DAC の併用療法が有用であり、CXCL14 のプロモーター領域のメチル化の有無がセツキシマブ投与前の効果判定マーカーになる可能性が示唆された。