

令和元年6月1日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11232

研究課題名(和文) サイトカインシグナル阻害分子(SOCS)導入による頭頸部癌に対する遺伝子治療

研究課題名(英文) Gene therapy for head and neck cancer by introducing suppressor of cytokine signaling (SOCS)

研究代表者

大月 直樹(Otsuki, Naoki)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：40343264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌において活性化しているサイトカインシグナル伝達系のひとつである JAK/STATシグナル経路はサイトカインシグナル阻害分子(SOCS)により抑制される。アデノウイルスベクターを用いてSOCS遺伝子を頭頸部癌細胞株に導入することにより、SOCSの発現が認められ、腫瘍細胞の増殖が抑制されることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌は全悪性腫瘍のうち約5%を占め、その患者数は近年増加傾向にある。サイトカインシグナル伝達の異常とくにJAK/STATシグナル経路は頭頸部癌の発症や増殖に関与していることが知られている。SOCS3遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて頭頸部癌細胞株に導入することにより、癌細胞の増殖が抑制されることが示された。SOCS3は頭頸部癌に対する新たな治療ターゲットとして、遺伝子導入による抗腫瘍効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：The JAK / STAT signaling pathway, which is one of the cytokine signaling pathways activated in head and neck cancer, is suppressed by suppressor of cytokine signaling (SOCS). By overexpression of SOCS3 mediated by adenovirus vector in a head and neck cancer cell line, it was shown that the growth of tumor cells is suppressed.

研究分野：耳鼻咽喉・頭頸部外科学

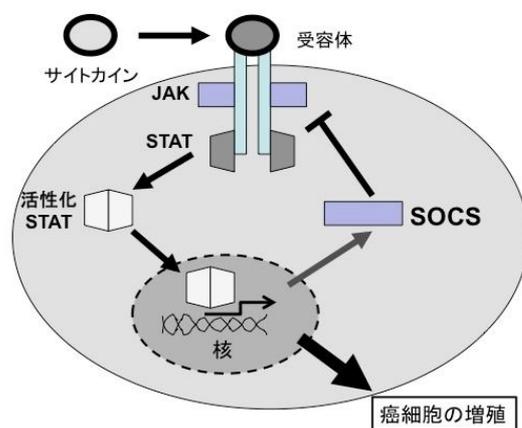
キーワード：頭頸部癌 遺伝子治療 サイトカインシグナル阻害分子

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は全悪性腫瘍のうち約5%を占め、その患者数は近年増加傾向にある。これまで頭頸部癌に対しては手術療法、放射線療法、化学療法を組み合わせた様々な集学的治療、分子標的薬による治療が試みられてきた。しかし、進行癌における生存率は未だに約50%前後で満足できる成果があげられていない。手術療法では根治が望めるものの、整容面はもちろん嚥下、発声障害など様々な機能的障害をきたしQOLの低下は避けられない。化学放射線療法においては嚥下障害や唾液分泌障害などの後遺症が問題視され、長期的な生存率は必ずしも良くないことが報告されている。また、近年日本においても頭頸部癌に対する使用が可能となった抗EGFR抗体などの分子標的薬においては腫瘍特異的でないことから正常組織障害による副作用が必発であり、新たな効果的かつ低侵襲な新たな治療法の開発が望まれている。

図1：JAK/STATシグナルとサイトカインシグナル阻害分子（SOCS）



サイトカインシグナル伝達の異常は癌の発症や増殖に関与していることが知られている。サイトカインシグナル伝達系のひとつであるJAK/STATシグナル経路は頭頸部癌をはじめとする多くの悪性腫瘍において活性化されていることが報告されており、これまでの基礎的研究からサイトカインシグナル阻害分子（以下：SOCS）はその活性化を抑制することがわかっている。

本研究では、頭頸部癌に対するより低侵襲な治療法の開発を目指して、SOCSを用いた遺伝子治療に関する分子生物学的研究を計画した。

2. 研究の目的

頭頸部癌におけるサイトカインシグナル阻害分子（SOCS）による遺伝子治療の開発をめざすとともに、頭頸部癌の発生、浸潤、転移におけるサイトカインシグナル伝達およびその阻害因子であるSOCSが関与する分子生物学的メカニズムを明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

当研究室で保有している頭頸部培養細胞株（扁平上皮癌、甲状腺癌）のSOCS3およびSTAT3の発現を確認し、JAK/STATシグナル回路の活性化が認められるかどうかを確認する。SOCS3の発現の少ない細胞株についてはエピジェネティックな発現抑制の可能性があるため、MSP (Methylation specific PCR)によりプロモーターのメチル化状態を確認し、5-Azacytidine (脱メチル化剤)投与による発現回復が見られるかどうか検証する。その上で、SOCS3の発現の低い細胞株についてアデノウイルスベクターを用いてSOCS3を導入することにより、JAK familyおよびSTAT3の蛋白レベルでの発現抑制が認められるかを確認する。導入後に培養を継続し細胞の増殖、アポトーシスおよび癌関連遺伝子の発現、IL-6などサイトカインへの影響について検討する。

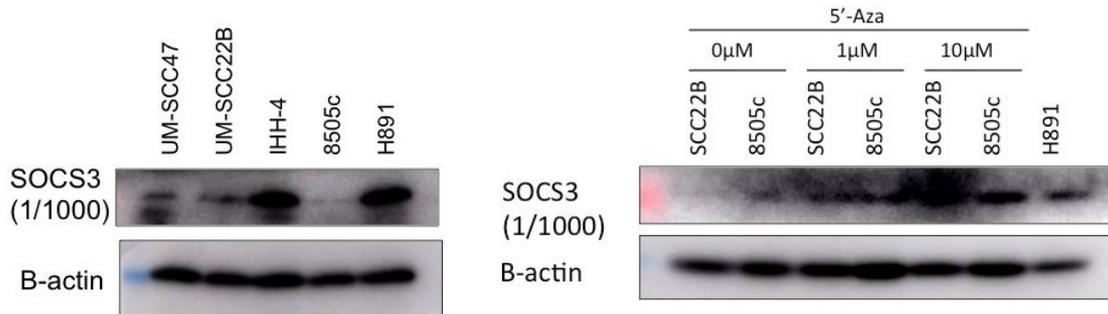
4. 研究成果

頭頸部培養細胞株（扁平上皮癌、甲状腺癌）のSOCS3の発現をウエスタンブロット法により確認したところ、頭頸部扁平上皮癌細胞株ではSOCS3を発現しているものが多く見られ、UM-SCC-

22B (舌癌リンパ節転移)では発現低下が見られた。一方、甲状腺癌ではIHH-4 (甲状腺乳頭癌)ではSOCS3を発現していたが、8505C (甲状腺未分化癌)では発現が見られないことが判明した (図2)。UM-SCC-22Bおよび8505C細胞株についてMSPを行い、メチル化があることを確認できたため、5-Azacytidine投与を行ったところ、SOCS3の発現増強が確認された。

図2

図3

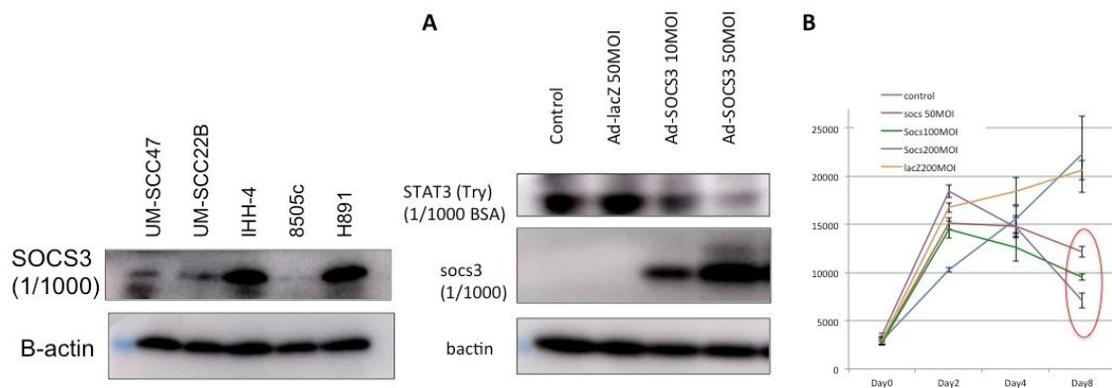


アデノウイルスベクターを用いてSOCS3を導入するため、SOCS3発現アデノウイルスベクター (Ad-SOCS3) を作成し、UM-SCC-22Bおよび8505C細胞株に導入した (図4)。8505C細胞株ではAd-SOCS3によりSOCS3発現がみられ、Alamar blueによる細胞生存率を経時的に調べた結果、Ad-SOCS3投与ではコントロールであるAd-LacZ投与に比べて有意に細胞増殖が抑制されることが判明した (図5)。

以上の結果をもとに、In vivo実験の準備中である。

図4

図5



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

Furukawa T, Komatsu H, Fujio H, Kojima Y, Morita N, Teshima M, Shinomiya H, Morimoto K, Otsuki N, Kano M, Nibu KI. A laryngeal closure technique for the treatment of patients with head and neck cancer. *Laryngoscope Investig Otolaryngol*. 2019 Jan 31;4(2):246-249. doi: 10.1002/lio2.253.

Otsuki N, Morita N, Furukawa T, Teshima M, Shinomiya H, Shinomiya H, Nibu KI. Functional and oncological outcomes after retropharyngeal node dissection for papillary thyroid carcinoma. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2019; 276(6):1809-1814. doi: 10.1007/s00405-019-05420-w

Otsuki N, Morita N, Furukawa T, Shinomiya H, Teshima M, Kojima Y, Nibu KI. Modified spiral tracheoplasty after extensive window resection of trachea for advan

ced thyroid cancer. *Auris Nasus Larynx*. in press

doi: 10.1016/j.anl.2019.02.008.

Teshima M, Otsuki N, Shinomiya H, Morita N, Furukawa T, Morimoto K, Nakamura T, Hashikawa K, Kiyota N, Sasaki R, Nibu KI. Impact of retropharyngeal lymph node dissection in the surgical treatment of hypopharyngeal cancer. *Head Neck*. 2019; 41(6): 1738-1744.

doi: 10.1002/hed.25608.

Fujio H, Otsuki N, Horichi Y, Yanagisawa S, Nishio M, Teshima M, Shinomiya H, Hashikawa K, Nibu KI. Cardiac metastasis in a living patient with oral cancer. *Auris Nasus Larynx*. in press,

doi: 10.1016/j.anl.2018.10.018.

Otsuki N, Matsui M, Takahashi M, Sasaki R, Kiyota N, Usami M, Nibu KI. Modified TALK Score for Japanese Patients with Laryngeal and Hypopharyngeal Cancers to Predict the Possibility of Laryngeal Preservation by Concurrent Chemoradiotherapy. *Kobe J Med Sci*. 2018, 19;63(4):E113-E122.

Avinçsal ÖM, Shinomiya H, Otsuki N, Sasaki R, Nibu KI. Successful Management of Aggressive Fibromatosis of the Neck: A Case Report. *Balkan Med J*. 2018, 29;35(3):278-281.

doi: 10.4274/balkanmedj.2017.0509.

Kojima Y, Otsuki N, Kubo M, Kitamoto J, Takata E, Saito H, Kosaka K, Morishita N, Uehara N, Shirakawa T, Nibu KI. Adenovirus-mediated transfer of HPV 16 E6/E7 antisense RNA combined with cisplatin inhibits cellular growth and induces apoptosis in HPV-positive head and neck cancer cells. *Cancer Gene Ther*. 2018 ;25(9-10):274-283.

doi: 10.1038/s41417-018-0024-3.

Teshima M, Otsuki N, Morita N, Furukawa T, Shinomiya H, Shinomiya H, Nibu KI. Postoperative hypoparathyroidism after total thyroidectomy for thyroid cancer. *Auris Nasus Larynx*. 2018, 45(6):1233-1238.

doi: 10.1016/j.anl.2018.04.008.

〔学会発表〕(計 5件)

Tips for avoiding and managing complications: Detection and preservation of parathyroid glands in total thyroidectomy for thyroid cancer, Naoki Otsuki, Masanori Teshima, Tatsuya Furukawa, Naruhiko Morita, Ken-ichi Nibu

2th Congress of Asia-Pacific thyroid surgery, 2017, Symposium

Patterns of neck metastases in surgically treated parotid cancer

Naoki Otsuki, Hitomi Shinomiya, Tatsuya Furukawa, Naruhiko Morita, Ken-ichi Nibu

5th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology, 2017, Oral

Parathyroid function after total thyroidectomy for thyroid carcinoma.

Masanori Teshima, Naoki Otsuki, Tatsuya Furukawa, Naruhiko Morita Ken-ichi Nibu.

2th Congress of Asia-Pacific thyroid surgery, 2017, Oral

Postoperative hypoparathyroidism in total thyroidectomy for thyroid cancer. Naoki Otsuki, Masanori Teshima, Naruhiko Morita, Ken-ichi Nibu

3th Congress of Asia-Pacific thyroid surgery, 2018, Symposium
Surgical approaches for thyroid cancer involving upper mediastinum.
Naoki Otsuki, Masanori Teshim, Tatsuya Furukawa, Naruhiko Morita Ken-ichi Nibu.
6th Congress of Asian Society of Head and Neck Oncology, 2019, Oral

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.med.kobe-u.ac.jp/jibi/index.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：丹生健一

ローマ字氏名：Nibu Ken-ichi

所属研究機関名：神戸大学大学院

部局名：医学研究科

職名：耳鼻咽喉科頭頸部外科 教授

研究者番号(8桁): 20251283

(2)研究協力者、連携研究者

連携研究者氏名：白川利朗

ローマ字氏名：Shirakawa Toshiro

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。