

令和元年5月23日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11730

研究課題名(和文) 口腔癌に対する温熱療法と分子標的薬Interleukin-6阻害薬の併用療法

研究課題名(英文) Combination therapy using hyperthermia and IL-6 inhibitor for oral cancer

研究代表者

光藤 健司 (Mitsudo, Kenji)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：70303641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト由来舌扁平上皮癌細胞株に対するIL-6阻害薬の抗腫瘍効果の評価を行ったところ、口腔癌細胞がハイパーサーミアによりIL-6Rが高発現することを確認した。一方、ヒト由来舌扁平上皮癌細胞株をヌードマウスの皮下に移植し腫瘍モデルを作成し、IL-6阻害薬投与と温熱療法の抗腫瘍効果について検討を行ったが、どちらの群もコントロール群と比較して有意な抗腫瘍効果は認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部扁平上皮癌においては抗EGFR抗体であるセツキシマブが臨床に導入され、その有効性が報告されている。我々は、リウマチに対する分子標的薬として応用されているサイトカインInterleukin-6(IL-6)阻害薬(抗IL-6R抗体、トシリズマブ、アクテムラ)が口腔扁平上皮癌に対しても抗腫瘍効果を示すと報告されていることから、IL-6阻害薬と温熱療法を併用し、癌標的分子の発現誘導と腫瘍の増殖抑制の効果について研究を行った。

研究成果の概要(英文)：We examined the anticancer effects of Interleukin-6 inhibitor for oral cancer cells combined with hyperthermia. Interleukin-6 receptor was highly expressed under heat treatment in the oral cancer cells. In a mouse oral cancer model, the tumor size in the Interleukin-6 inhibitor-injected group and hyperthermia group were no significant differences compared to the control group.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔癌 温熱療法 IL-6阻害薬

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

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、がん治療においては様々な分子標的薬が研究・開発されており、頭頸部癌においても抗 EGFR 抗体 (セツキシマブ) が臨床に導入され、その有効性が報告されている。リウマチに対する分子標的薬として応用されているサイトカイン Interleukin-6(IL-6) 阻害薬 (トシリズマブ, アクテムラ®) が頭頸部癌に有効であるとの報告がある。今後頭頸部癌に対する新たな分子標的薬の開発が望まれる。

(2) 口腔癌の頸部リンパ節転移は制御困難で頸部転移を有する口腔癌の予後は不良である。そのため我々は頸部転移を有する口腔癌に対して頸部へのがん温熱療法を行い、頸部の転移巣に対する治療を行っている。今回我々は口腔癌に対し IL-6 阻害薬に温熱療法を併用することに着目した。

2. 研究の目的

口腔癌に対し IL-6 阻害薬と温熱療法を併用し、標的分子の発現誘導と腫瘍の増殖抑制に対する相乗効果の検討を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ヒト由来口腔扁平上皮癌細胞株に対する IL-6 阻害薬の抗腫瘍効果の評価を行う。温熱療法刺激により口腔癌細胞において IL-1R の発現量の評価を行う。同様に細胞レベルで温熱による IL-6 受容体の発現量の評価を行う。温熱により IL-6R の発現量を増加させ温熱療法併用での抗腫瘍効果の相乗効果の評価する。

(2) ヒト扁平上皮癌細胞株をヌードマウスに移植し腫瘍モデルを作成して温熱療法と IL-6R 阻害薬の併用療法の抗腫瘍効果を検討する。マウスより腫瘍や血液サンプルを採取し、それを用いて抗腫瘍効果のメカニズムを解析する。

4. 研究成果

(1) 平成 28, 29 年度はヒト由来舌扁平上皮癌細胞株に対する IL-6 阻害薬の抗腫瘍効果の評価を行った。口腔癌細胞が温熱療法により IL-6R が高発現することを確認し、IL-6 を過剰発現させた状況では IL-6 活性化の下流シグナルである STAT3 のリン酸化タンパクの発現が観察された。42、30 分の温熱刺激で、IL-6 の発現・活性化が誘導されることが分かった。温熱刺激直後に IL-6 阻害薬を添加すると、IL-6 の活性化は抑制されたが、完全な阻害には至らなかった。IL-6 阻害薬は温熱直後に添加すると IL-6 活性化によってその効果が打ち消される可能性があると考えられた。

(2) 平成 30 年度は動物実験を行った。ヒト由来舌扁平上皮癌細胞株をヌードマウスの皮下に移植し腫瘍モデルを作成した。実験はコントロール群、IL-6 阻害薬投与群、温熱療法単独治療群、IL-6 阻害薬投与 + 温熱療法群の計 4 群で行った。結果はコントロール群に対し、いずれの群でも有意な差を認めなかった。これはサンプル数が少ないこと、それぞれの群にばらつきが大きいことが原因として挙げられる。また、温熱療法を用いた治療群では腫瘍部にあてた温熱機器の接触に問題が生じた例も見られた。具体的には、温熱機器の接触部が偏り、ごくわずかな範囲に熱が集中したことで過加温となった。今後、動物実験のプロトコルを改変する余地があると考えられた。さらに抗 IL-6 投与のタイミング、投与量についても検討を行う。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (21 件)

Nozato T, Koizumi T, Hayashi Y, Iida M, Iwai T, Oguri S, Hirota M, Kioi M, Koike I, Hata M, Tohnai I, Mitsudo K: Thermochemoradiotherapy using superselective intra-arterial infusion for patients with oral cancer with cervical lymph node metastases. *Anticancer Res.* 査読有, 2019 Mar;39(3):1365-1373. doi: 10.21873/anticancer.13250.

Hayashi Y, Osawa K, Nakakaji R, Minamiyama S, Ohashi N, Ohya T, Iida M, Iwai T, Ozawa T, Oguri S, Koizumi T, Hirota M, Kioi M, Hata M, Mitsudo K: Prognostic factors and treatment outcomes of advanced maxillary gingival squamous cell carcinoma treated by intra-arterial infusion chemotherapy concurrent with radiotherapy. *Head Neck.* 査読有, 2019 29. doi: 10.1002/hed.25607

Sakuma K, Koizumi T, Mitsudo K, Ueda J, Hayashi Y, Iwai T, Hirota M, Kioi M, Yoshii H, Kaizu H, Hata M, Tanaka A, Tohnai I. Retrograde superselective intra-arterial chemoradiotherapy combined with hyperthermia and cetuximab for carcinoma of the buccal mucosa with N3 lymph node metastasis: a case report. *Oral Radiol.* 査読有, 35, 77-83, 2019.

Mitsudo K, Hayashi Y, Minamiyama S, Ohashi N, Iida M, Iwai T, Oguri S, Koizumi T, Kioi M, Hirota M, Koike I, Hata M, Tohnai I. Chemoradiotherapy using retrograde superselective intra-arterial infusion for tongue cancer: analysis of therapeutic results in 118 cases. *Oral Oncol.* 査読有, 79, 71-77, 2018.

- Ohashi N, Iwai T, Tohara H, Chiba Y, Oguri S, Koizumi T, **Mitsudo K**, Tohnai I. Swallowing function in advanced tongue cancer patients before and after bilateral neck dissection following superselective intra-arterial chemoradiotherapy for organ preservation: a case-control study. *Oral Radiol*. 査読有, 2018, 20. doi: 10.1007/s11282-018-0341-0.
- Baba J, Kioi M, Akimoto K, Nagashima Y, Taguri M, Inayama Y, Aoki I, Ohno S, **Mitsudo K**, **Tohnai I**. Atypical Protein Kinase C $\lambda/1$ Expression Is Associated with Malignancy of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Anticancer Res*. 査読有, 38(11), 6291-6297, 2018.
- Hayashi Y, Minamiyama S, Ohya T, Iida M, Iwai T, Koizumi T, Oguri S, Hirota M, Kioi M, Hata M, Taguri M, **Mitsudo K**. Daily Cisplatin and Weekly Docetaxel versus Weekly Cisplatin Intra-Arterial Chemoradiotherapy for Late T2-3 Tongue Cancer: A Pilot and Feasibility Trial. *Medicina (Kaunas)*. 査読有, 2018 Jul 30;54(4). pii: E52. doi: 10.3390/medicina54040052.
- Endo H, Takayama K, **Mitsudo K**, Nakamura T, Seto I, Yamaguchi H, Ono T, Suzuki M, Azami Y, Wada H, Murakami M, **Tohnai I**, Proton beam therapy in combination with intra-arterial infusion chemotherapy for T4 squamous cell carcinoma of the maxillary gingiva. *Cancers* 査読有, 2018, 10(9), 333; doi:10.3390/cancers10090333
- Kondoh N, Mizuno-Kamiya M, Takayama E, Kawati H, Umemura N, Yamazaki Y, **Mitsudo K**, **Tohnai I**. Perspectives of Immune Suppression in the Tumor Microenvironment Promoting Oral Malignancy. *Open Dent J* 査読有, 12, 455-465, 2018.
- Nakakaji R, Umemura M, **Mitsudo K**, Kim JH, Hoshino Y, **Sato I**, Masuda T, Yamamoto M, Kioi M, Koizumi T, Fujita T, Yokoyama U, Iida M, Sato M, Sato H, Murofushi S, Shibata S, Aoki I, Eguchi H, **Tohnai I**, Ishikawa Y. Treatment for oral cancer using intrinsically magnetized paclitaxel. *Oncotarget*. 査読有, 9(21):15591-15605, 2018
- Shibasaki M, Iwai T, Oguri S, Koizumi T, Hirota M, **Mitsudo K**, Ozawa Y, Tohnai I. Role of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography in predicting pathological response to preoperative superselective intra-arterial chemoradiotherapy for advanced squamous cell carcinoma of the mandible. *J Bone Oncol*. 査読有, 33-37, 2018.
- Hayashi Y, **Mitsudo K**, Sakuma K, Iida M, Iwai T, Nakashima H, Okamoto Y, Koizumi T, Oguri S, Hirota M, Kioi M, Koike I, Hata M, **Tohnai I**. Clinical outcomes of retrograde intra-arterial chemotherapy concurrent with radiotherapy for elderly oral squamous cell carcinoma patients aged over 80 years old. *Radiat Oncol*. 査読有, 12: 112, 2017. DOI 10.1186/s13014-017-0847-3
- Minamiyama S, **Mitsudo K**, Hayashi Y, Iida M, Iwai T, Nakashima H, Oguri S, Ozawa T, Koizumi T, Hirota M, Kioi M, **Tohnai I**: Retrograde superselective intra-arterial chemotherapy and daily concurrent radiotherapy for T2-4N0 tongue cancer. control of occult neck metastasis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 査読有, 124: 16-23, 2017.
- Okubo M, Kioi M, Nakashima H, Sugiura K, **Mitsudo K**, Aoki I, Taniguchi H, **Tohnai I**: M2-polarized macrophages contribute to neovasclogenesis, leading to relapse of oral cancer following radiation. *Sci Rep*. 査読有, 6:27548, 2016. doi: 10.1038/srep27548.
- Sato I**, Umemura M, **Mitsudo K**, Fukumura H, Kim J-H, Hoshino Y, Nakashima H, Kioi M, Nakakaji R, Sato M, Fujita T, Yokoyama U, Okumura S, Eguchi H, Oshiro H, **Tohnai I**, Ishikawa Y.: Simultaneous hyperthermia-chemotherapy with controlled drug delivery using single-drug nanoparticles. *Sci Rep*. 査読有, 22;6:24629, 2016. doi: 10.1038/srep24629.
- Hayashi Y, Nakamura T, **Mitsudo K**, Yamaguchi H, Ono T, Azami Y, Takayama K, Suzuki M, Hatayama Y, Tsukiyama I, Hareyama M, Kikuchi Y, Fuwa N, **Tohnai I**.: Retrograde intra-arterial chemotherapy and daily concurrent proton beam therapy for recurrent oral cavity squamous cell carcinoma: Analysis of therapeutic results in 46 cases. *Head Neck*. 査読有, 2016 Mar 28. doi: 10.1002/hed.24421.
- Hayashi Y, Nakamura T, **Mitsudo K**, Kimura K, Yamaguchi H, Ono T, Azami Y, Takayama K, Hirose K, Yabuuchi T, Suzuki M, Hatayama Y, Kikuchi Y, Wada H, Fuwa N, Hareyama M, **Tohnai I** Re-irradiation using proton beam therapy combined with weekly intra-arterial chemotherapy for recurrent oral cancer. *Asia Pac J Clin Oncol*. 査読有, 2016 May 25. doi: 10.1111/ajco.12502.
- Shimizu M, **Mitsudo K**, Koike I, Taguri M, Iwai T, Koizumi T, Oguri S, Kioi M, Hirota M, Inoue T, **Tohnai I**.: Prognostic value of 2-[18 F]fluoro-2-deoxy-D-glucose positron emission tomography for patients with oral squamous cell carcinoma treated with retrograde superselective intraarterial chemotherapy and daily concurrent radiotherapy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology* 査読有, 121(3):239-247: 2016.
- ② Takayama K, Nakamura T, Takada A, Makita C, Azami Y, Toyomasu Y, Kato T, Kikuchi Y, Daimon T, **Mitsudo K**, **Tohnai I**, Fuwa N. Treatment results of alternating chemoradiotherapy followed by proton beam therapy boost combined with intra-arterial infusion chemotherapy for stage III-IVB tongue cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 査読有, 142(3): 659-667: 2016.

[学会発表](計16件)

Mitsudo K, Hayashi Y, Minamiyama S, Ohashi N, Ohya T, Iida M, Iwai T, Oguri S, Koizumi T,

Kioi M, Hirota M, Tohnai I. Chemoradiotherapy using retrograde superselective intra-arterial infusion for tongue cancer: analysis of therapeutic results in 118 cases. 13th Asian Congress of Oral and Maxillofacial Surgery. Taipei, 2018, 11.

Sugiyama S, Iwai T, Izumi T, Baba J, Oguri S, Mitsudo K: Sentinel lymph node mapping using CT lymphography for N0 oral cancer. XXIIIth Congress of the European Association for Cranio-Maxillofacial Surgery, Munchen, Germany, 2018, 9.

Sugiyama S, Iwai T, Izumi T, Ando S, Usui H, Horiumi H, Baba J, Oguri S, Mitsudo K: MR lymphography for sentinel lymph node mapping of the early oral cancer. 13th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery. Taipei, Taiwan, 2018, 11.

Mitsudo K, Koizumi T, Hayashi Y, Iida M, Iwai T, Nakashima H, Oguri S, Kioi M, Hirota M, Tohnai I: Retrograde superselective intra-arterial chemotherapy and daily concurrent radiotherapy for stage III and IV oral cancer: Analysis of therapeutic results in 112 cases. Society Symposia 10. 6th World Oral Cancer Congress of the International Academy of Oral Oncology (IAOO), Bangalore, India, 2017, 5.

Endo M, Mitsudo K, Koike I, Iwai T, Koizumi T, Oguri S, Kioi M, Hirota M, Inoue T, Tohnai I: Prognostic Value of FDG-PET for Patients with Oral Squamous Cell Carcinoma. The 12th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology (AOCNMB 2017), Yokohama, Japan, 2017, 10.

Hayashi Y, Mitsudo K, Endo H, Takayama K, Nakamura T, Tohnai I: Re-irradiation using proton beam therapy combined with weekly intra-arterial chemotherapy for recurrent oral cancer. Taiwanese Associations of Oral and Maxillofacial Surgeons. The 29th Annual Congress. Taipei, Taiwan, 2017, 3, 4.

Hayashi Y, Mitsudo K, Oguri S, Takayama K, Wada H, Nakamura T, Tohnai I: Multimodal imaging in the detection of maxillary sinus osteosarcoma recurrence: a case report. The 12th Asia Oceania Congress of Nuclear Medicine and Biology (AOCNMB 2017), Yokohama, Japan, 2017, 10.

Iwai T, Sugiyama S, Kusakabe M, Sekino M, Kaneko A, Kuwahata A, Mitsudo K, Tohnai I. Development of codeless handy magnetic probe to detect sentinel lymph node for N0 oral cancer. 6th Triennial Congress of Advanced Digital Technology in Head and Neck Reconstruction, Amiens, France, 2017, 6.

Nakashima H, Kioi M, Yanagida K, Okubo M, Sugiura K, Mitsudo K, Tohnai I: Targeting of interleukin-13 receptor $\alpha 2$ for treatment of head and neck squamous cell carcinoma induced by conditional deletion of TGF- β and PTEN signaling. 6th World Oral Cancer Congress of the International Academy of Oral Oncology (IAOO), Bangalore, India, 2017,5.

Sugiyama S, Iwai T, Izumi T, Ando S, Sugiura K, Shibasaki M, Ishiguro K, Yoshii H, Sakuma K, Baba J, Mitsudo K, Tohnai I. Dynamic CT lymphography for sentinel lymph node mapping of N0 oral cancer. 6th Triennial Congress of Advanced Digital Technology in Head and Neck Reconstruction, Amiens, France, 2017, 6.

Sugiura K, Kioi M, Iisaka T, Okubo M, Nakashima H, Mitsudo K, Tohnai I: Role of CD11b+BMDCs in lymph node metastasis: a study in an orthotopic nude mouse model of squamous cell carcinoma of the oral tongue. 6th World Oral Cancer Congress of the International Academy of Oral Oncology (IAOO), Bangalore, India, 2017, 5.

Mitsudo K, Oguri S, Minamiyama S, Iida M, Iwai T, Nakashima H, Koizumi T, Kioi M, Hirota M, Tohnai I: Organ preservation with daily concurrent chemoradiotherapy using retrograde superselective intra-arterial infusion for locally advanced tongue cancer: analysis of therapeutic results in 101 cases. 2016 American Society of Clinical Oncology (ASCO) Annual Meeting, Chicago, 2016, 6.

Iwai T, Ishiguro K, Sugiura K, Oguri S, Koizumi T, Hirota M, Kioi M, Mitsudo K, Tohnai I: Sentinel lymph node biopsy under indocyanine green fluorescent navigation for early stage tongue cancer. XXIIth Congress of the European Association for Cranio-Maxillofacial Surgery, London, UK, 2016, 9.

Nakashima H, Okubo M, Kioi M, Miyajima A, Iisaka T, Sugiura K, Itaru S, Koizumi T, Mitsudo K, Tohnai I: Hyperthermia enhances the therapeutic efficacy of IL-13 cytotoxin in human oral squamous cell carcinoma. The 12th International congress of hyperthermic oncology, New Orleans, USA, 2016, 4.

光藤健司、藤内 祝：進行口腔癌の頸部リンパ節転移に対する超選択的動注化学放射線療法とハイパーサーミアの併用療法．シンポジウム「各領域におけるハイパーサーミアのこれまでの実績と今後の展望」日本ハイパーサーミア学会第33回大会、筑波、2016,9.

{ 図書 } (計 1 件)

Mitsudo K, Tohnai I : Clinical Science in Cancer Patients Chapter 16 Combination Therapy with Hyperthermia and Chemoradiotherapy: Oral Cancer: Hyperthermic Oncology from Bench to Bed. (Editor: Ohnishi T, Yoshikawa T, Kokura S.) p177-192 Springer 2016.

〔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

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：佐藤 格
ローマ字氏名：SATO, Itaru
所属研究機関名：横浜市立大学
部局名：医学研究科
職名：客員研究員
研究者番号（8桁）：00737710

研究分担者氏名：藤内 祝
ローマ字氏名：TOHNAI, Iwai
所属研究機関名：横浜市立大学
部局名：医学研究科
職名：教授
研究者番号（8桁）：50172127

(2)研究協力者

なし

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。