

令和元年6月18日現在

機関番号：17201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20254

研究課題名(和文) 頭頸部癌に対する腫瘍溶解性ウイルス療法導入のための基礎的研究

研究課題名(英文) Oncolytic virus immunotherapy for head and neck cancer

研究代表者

山内 盛泰 (Yamauchi, Moriyasu)

佐賀大学・医学部・助教

研究者番号：30572838

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌細胞株(HSC-2, -3, -4)における、腫瘍溶解性ウイルス Coxsackievirus B3 (CVB3)のウイルス受容体である coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) および CD55 (DAF) の発現をフローサイトメトリーにて確認したところ、細胞表面における発現が確認できた。CVB3によって細胞死が誘導されるかどうかをin vitroで検討したところ、ウイルス濃度依存的、感染時間依存的に細胞死が誘導されることを確認した。これら細胞死の誘導の程度の細胞株間の差異はウイルス受容体の発現の程度との相関はみられなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

固型がんに対する免疫療法の適応が広がっているが、長期生存が可能となる例もあるものの依然として奏効率は低いのが現状である。現在も様々な新たな免疫療法の開発が進められているが、免疫療法の効果発現に重要なのが腫瘍が免疫系から異物として認識されることである。そのために腫瘍の免疫原性を高める治療法の一つとして腫瘍溶解性ウイルス療法は有望な方法であり、頭頸部癌は腫瘍へのアプローチが容易であることから治療対象として適切であると考えられる。将来的な臨床応用に向けて、培養細胞株レベルでの効果を確認することは重要なステップである。

研究成果の概要(英文)：The expression of cell surface CVB3 receptors (coxsackievirus and adenovirus receptor: CAR and CD55: DAF) on human oral squamous cell carcinoma cell lines (HSC-2, -3 and -4) was detected by flow cytometry analysis. Virus titer dependent antitumor effect of CVB3 against the cell lines was confirmed by crystal violet staining. Time dependent antitumor effect of CVB3 against the cell lines was confirmed by MTS assay.

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部癌 腫瘍溶解ウイルス 腫瘍免疫 immunogenic cell death

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

### 1. 研究開始当初の背景

腫瘍溶解性ウイルス療法は、ウイルス感染による直接の殺腫瘍作用だけでなく、それに伴う二次的な宿主の特異的抗腫瘍免疫を誘導することが可能であり、これによって感染していない周囲のがん細胞、さらには遠隔転移腫瘍に対しても効果を発揮することが可能であり、免疫療法としての側面も持っているのが特徴である。頭頸部癌は腫瘍を直視下に置くことが可能であり腫瘍溶解性ウイルスを腫瘍内に導入することが容易に行える。また患者に対する侵襲無く継続的な変化を観察することも可能で、腫瘍溶解性ウイルス療法の良い適応と考えられる。また有効な化学療法が確立しておらず、手術療法、放射線療法以外に有効な治療法が無い現状からしても、将来、腫瘍溶解性ウイルス療法のよい適応となる領域と考えられる。

### 2. 研究の目的

頭頸部癌に対する新たな治療戦略として免疫療法を導入することを目指し、頭頸部癌細胞株を用いて腫瘍溶解性ウイルス治療の有効性を、*in vitro* および *in vivo* で検討し、将来の臨床応用につなげることを目的とする。

### 3. 研究の方法

頭頸部癌細胞株に対する腫瘍溶解性ウイルスの効果を検討するために、*in vitro* で癌細胞表面のウイルス受容体の発現の確認、ウイルス感染による細胞の生存率、アポトーシス誘導等について検討を行う。

マウスを用いて腫瘍移植実験を行い、腫瘍サイズ変化、マウス生存率等、*in vivo* での腫瘍溶解性ウイルスの効果を検討する

腫瘍溶解性ウイルス治療が直接の殺腫瘍作用だけでなく、免疫刺激作用によっても抗腫瘍効果を発揮しているかどうかについての検討を行うため、*in vitro* および腫瘍移植マウスを用いて免疫学的検討を行う

ヒト頭頸部癌切除標本を用いて腫瘍溶解性ウイルス受容体の発現を確認する。また初代培養細胞株を樹立し、腫瘍溶解性ウイルスの効果を検討する。

### 4. 研究成果

頭頸部癌細胞株(HSC-2, -3, -4)における、腫瘍溶解性ウイルス Coxsackievirus B3 (CVB3) のウイルス受容体である coxsackievirus and adenovirus receptor (CAR) および CD55 (DAF) の発現をフローサイトメトリーにて確認したところ、細胞表面における発現が確認できた。

CVB3 によって細胞死が誘導されるかどうかを *in vitro* で検討したところ、ウイルス濃度依存的、感染時間依存的に細胞死が誘導されることを確認した。これら細胞死の誘導の程度の細胞株間の差異はウイルス受容体の発現の程度との相関はみられなかった。

現在、ヒト頭頸部癌切除標本を用いて腫瘍溶解性ウイルス受容体の発現を確認するための免疫染色実験中である。

### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Yamauchi M, Kai K, Shibamiya N, Shimazu R, Monji M, Suzuki K, Kakinoki H, Tobu S, Kuratomi Y. Didactic surgical experience of thyroid metastasis from renal cell carcinoma: A case report and review of literature. World J Clin Cases. 2018 Dec 6;6(15):1018-1023. (査読有)
2. 当科における甲状腺癌に対するレンパチニブ治療経験  
山内盛泰, 峯崎晃充, 佐藤有記, 倉富勇一郎  
耳鼻と臨床 64 巻 6 号 Page228-236(2018.11) (査読有)
3. 当科における局所進行頭頸部癌に対するセツキシマブ併用放射線療法の早期有効性と有害事象の検討  
山内盛泰, 川崎佳奈子, 嶋崎絵里子, 峯崎晃充, 門司幹男, 鈴木久美子, 島津倫太郎, 倉富勇一郎  
頭頸部癌: 44 巻 3 号 Page310-315(2018.10) (査読有)
4. Hatano T1, Ohishi M, Yoshimoto G, Yamauchi M, Maekawa A, Yamamoto H, Oda Y, Endo M, Bekki H, Matsunobu T, Nakashima Y, Okazaki K, Fukushi JI, Oyamada A, Iwamoto Y. (2017) Methotrexate-Related Lymphoproliferative Disorder Presenting with Severe Swelling of the Elbow Joint: A Case Report. JBJS Case Connect. 2017 Jul-Sep;7(3):e65. (査読有)

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 当科におけるレンパチニブの使用経験  
山内盛泰, 島津倫太郎, 佐藤有記, 岡村誠司, 嶋崎絵里子, 門司幹男, 鈴木久美子, 倉富勇一郎  
第119回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会(2018年)
2. Management of thyroid metastasis from renal cell carcinoma -A case report and review of literature-  
Moriyasu Yamauchi and Yuichiro Kuratomi  
2nd Congress of Asia-Pacific Society of Thyroid Surgery(2017年)
3. 当科におけるセツキシマブ使用症例についての検討  
山内盛泰, 峯崎晃充, 鈴木久美子, 門司幹男, 島津倫太郎, 倉富勇一郎  
第41回日本頭頸部癌学会(2017年)
4. 術中に大量出血をきたした淡明細胞型腎細胞癌の甲状腺転移の1例  
山内盛泰, 峯崎晃充, 斎藤真貴子, 鈴木久美子, 島津倫太郎, 倉富勇一郎  
第27回日本頭頸部外科学会学術講演会(2017年)

〔図書〕(計 2 件)

1. 当科におけるセツキシマブ使用時マニュアル(解説/特集)  
山内盛泰, 倉富勇一郎  
頭頸部癌 Frontier 5 巻 1 号 Page21-24(2017)
2. 先天性頸部嚢胞性腫瘍(解説/特集)  
山内盛泰, 倉富勇一郎

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔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：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

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。