

令和元年9月5日現在

機関番号：18001  
 研究種目：若手研究(B)  
 研究期間：2016～2018  
 課題番号：16K20264  
 研究課題名（和文）HPV関連頭頸部癌に対する新規分子標的薬の開発

研究課題名（英文）Molecular target for HPV positive HNCs

## 研究代表者

近藤 俊輔（Kondo, Shunsuke）

琉球大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：90596363

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）：HPV陽性癌細胞株および陰性癌細胞株においてmTOR複合体1および、mTOR複合体2の遺伝子および蛋白質発現に違いがあることが分かった。そこでmTOR阻害剤であるテムシロリムスを用いて阻害剤実験を行うとHPV陽性癌細胞と陰性癌細胞で増殖の違いを認めた。HPV陽性癌細胞が陰性癌細胞と比較しテムシロリムスにより増殖が抑制される結果となった。次に組織検体からcDNAを抽出し遺伝子発現を検討すると、癌細胞株で認めたそれぞれの遺伝子発現の違いが、実際の組織検体でも証明された。mTORがHPV関連癌に対して重要な意義を持つことが示唆される結果となった。

## 研究成果の学術的意義や社会的意義

咽頭癌、特に中咽頭（扁桃）癌においてヒトパピローマウイルス（HPV）が発症に関与することは広く知られている。またHPVによる癌の発症機序は喫煙やアルコールが関連する癌の発症機序と異なる。しかしHPVが関与する癌に関して特異的な治療はまだ見つかっていない。そこで本研究にてHPVに特化した標的分子の検討を行った。結果として、細胞の増殖や細胞死に関連するmTORがHPV関連癌において重要な標的分子であることが示された。HPV関連癌に関して新たな治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：It is still uncertain about molecular targets toward HPV positive HNCs. So we planned this study to detect a specific molecular target towards HPV positive head neck cancers (HNCs) using human cancer cell lines and also using cancer tissues. There was a difference of gene and protein expression between HPV positive cancer cells and negative cancer cells with the component of mTOR complex 1 and 2. And we used mTOR inhibitor temsirolimus toward cancer cells. HPV positive cancer cells were more effective with temsirolimus. Also we extract cDNA from Oropharyngeal cancer tissues and investigate the gene expression of the component of mTOR complex 1 and 2. The result of tissue was similar with the result of cancer cells. With the result of this study mTOR seemed to be an important target toward HPV positive HNCs.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：頭頸部癌 HPV

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

### 1. 研究開始当初の背景

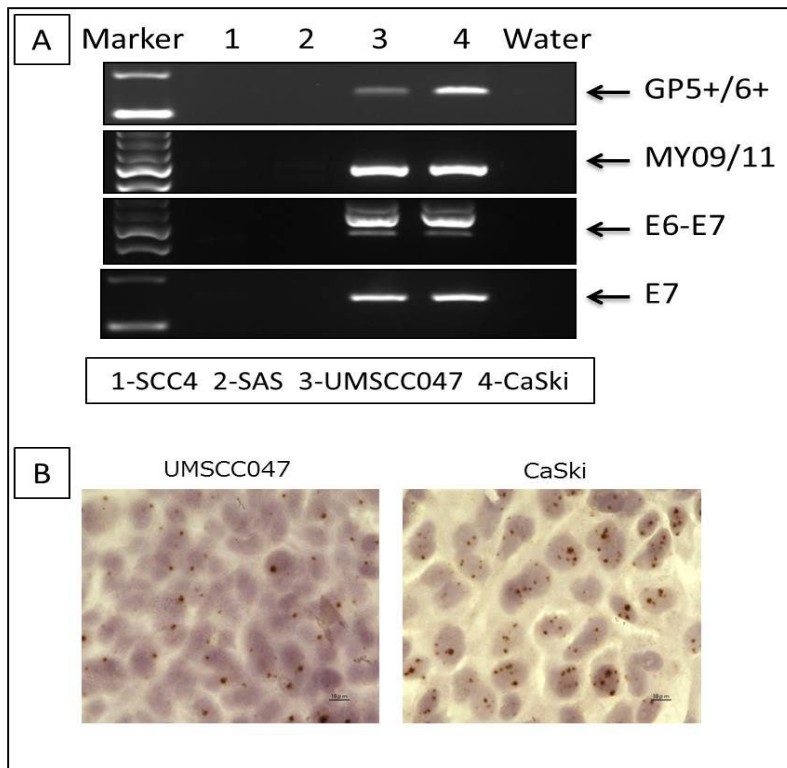
本邦、欧米の癌登録では、過去 20 年以上にわたり一貫して中咽頭癌の罹患率が上昇している。喫煙率が低下していることから、増加している症例の多くは HPV 関連癌であり低年齢化を伴いつつ今後も増加すると予測されている (Nasman A et al, Int J Cancer, 2009 / Shiboski CH et al, Cancer, 2005)。欧米では、女性に加え男性にも HPV ワクチン接種を行う国があるが、本邦では HPV ワクチンの副作用から積極的な接種が行われていない。また副作用の少ない新規ワクチンが開発されても、HPV 感染から発癌には数十年を必要とすることから、今後も本邦では HPV 関連癌が増加すると予測される。HPV 関連癌は化学放射線治療の奏効率が高いが、放射線化学療法は強い急性期障害 (粘膜炎、嚥下障害など)、晩期障害 (気道狭窄、嚥下障害、顎骨壊死、口腔乾燥症、放射線誘発がんなど) を生じる。一方、罹患者は低年齢化しており、HPV をターゲットにした低侵襲でより有効な新規治療の開発は、重要な課題である。

### 2. 研究の目的

HPV 関連頭頸部癌は疾患予後が良好なことから治療強度を落とした de-escalation study が進行中であるが、実臨床では HPV 関連頭頸部癌とその他の頭頸部癌を区別せず同様の治療が行われている。本研究では HPV 関連頭頸部癌に対する新規標的分子を同定し、最終的により低侵襲な治療法を開発することを目的とする。

### 3. 研究の方法

HPV 関連 / 非関連癌細胞株 (表 1) を用い、HPV 関連癌における特異的細胞シグナル機構を同定する。まずは阻害剤による細胞増殖試験にて、HPV 関連癌で特異的なシグナリング経路を検討する。そして検討したシグナリング経路で産生される蛋白発現を検証し、HPV 関連癌の細胞増殖に影響するシグナリング経路を同定する。さらに HPV 関連 / HPV 非関連頭頸部癌の凍結標本、病理組織標本を用い研究 1 で観察された標的分子の発現を



RT-PCR, 免疫染色で確認する。また real-time PCR を用いた定量的測定を行う。

表 1 (左表)

A-癌細胞株に対して PCR を行い UMSCC047 および CaSki が HPV 関連癌細胞株であることを確認。B-In-situ Hybridization を行い HPV 関連癌細胞株において HPV が DNA 内に Integrate されているかの評価も行った。

### 4. 研究成果

HPV 陽性癌細胞株および陰性癌細胞株において mTOR 複合体 1 および、mTOR 複合体 2 の遺伝子および蛋白質発現に違いがあることが分かった。そこで mTOR 阻害剤であるテムシロリムスを用いて阻害剤実験を行うと HPV 陽性癌細胞と陰性癌細胞で増殖の違いを認めた (図 1)。HPV 陽性癌細胞が陰性癌細胞と比較しテムシロリムスにより増殖が抑制される結果となった。またフローサイトメトリにより阻害剤が癌細胞に対してどのように細胞増殖を抑えているかの検討も行った。フローサイトメトリの結果からはアポトーシスの促進ではなく細胞周期の抑制がテムシロリムスによる細胞増殖抑制のメインの作用であることが考えられた (図 2)。次に中咽頭癌組織検体から cDNA を抽出し遺伝子発現を検討すると、癌細胞株で認めたそれぞれの遺伝子発現の違いが、実際の組織検体でも証明された。

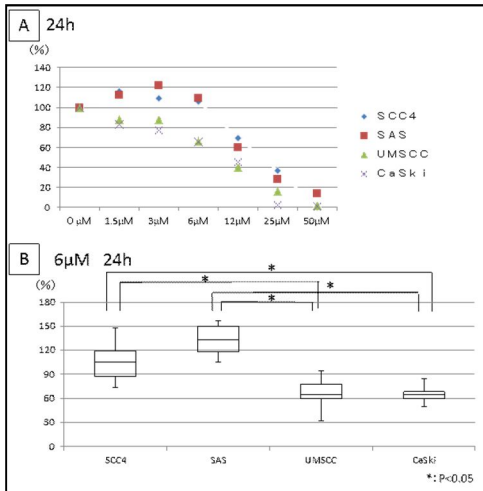


図1 阻害剤暴露 24 時間後の WST-1 assay HPV 関連癌、非関連癌にて 24 時間後の増殖に有意差を認める。

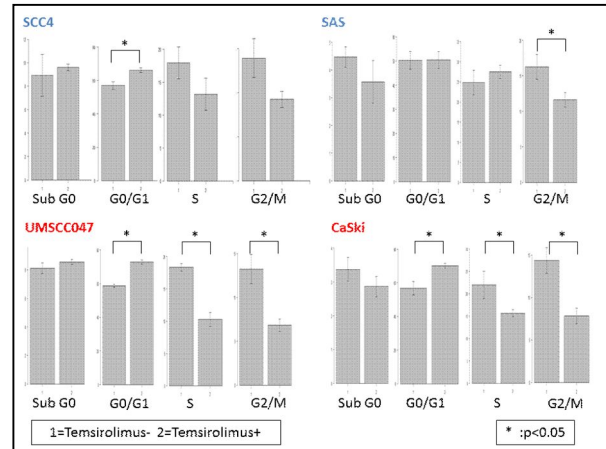


図2 細胞周期を評価、HPV 関連癌細胞株において G0/G1 期が阻害剤暴露後に有意に増加している。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔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：  
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：

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。