

令和 5 年 6 月 3 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09891

研究課題名(和文) 頭頸部癌に対するサイトカインシグナル阻害分子遺伝子導入による集学的治療の開発

研究課題名(英文) Development of multidisciplinary treatment by cytokine signal inhibitor molecule gene transfer for head and neck cancer

研究代表者

大月 直樹(Otsuki, Naoki)

神戸大学・医学研究科・客員教授

研究者番号：40343264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌の中でも甲状腺癌は生物学的悪性度の低い分化癌から極めて悪性度の高い未分化癌に移行することが知られている。本研究では、偶発型未分化癌の組織学的検索によりBRAFの発現が分化癌成分および未分化癌成分の両者で見られたのに対してp53は未分化癌成分のみで発現が認められ、SOCS3のタンパク発現は75%の甲状腺乳頭癌で認められたが、未分化癌では発現が認められなかった。このことは、SOCS3の発現低下によって未分化癌への転化が引き起こされているという仮説を支持している。in vitro実験では、アデノウイルスベクターによるSOCS3導入により、未分化癌細胞の増殖が抑制された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで分化癌である甲状腺乳頭癌と未分化癌との分子生物学的な比較検討がなされてきたが、未分化転化に至るメカニズムは未解明である。今回の研究では、サイトカインシグナル阻害分子であるSOCS3の本メカニズムにおける役割に着目した。研究結果からSOCS3の発現低下によって未分化癌への転化が引き起こされているという可能性が示唆された。in vitro実験では、甲状腺未分化癌の細胞株へのアデノウイルスベクターによるSOCS3導入により、細胞の増殖が抑制された。以上のことから、甲状腺未分化癌に対するサイトカインシグナル阻害分子遺伝子導入が新たな治療法として期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, in patients who underwent surgery as differentiated cancer, histological examination revealed that BRAF expression was found in both differentiated and undifferentiated cancer components, whereas p53 expression was found only in undifferentiated cancer components. The protein expression of SOCS3 was observed in 75% of papillary thyroid carcinomas by immunohistochemical staining, but not in undifferentiated carcinomas. This supports the hypothesis that the downregulation of SOCS3 induces transformation to undifferentiated cancer. In an in vitro study using undifferentiated thyroid cancer cell lines, introduction of SOCS3 using an adenovirus vector suppressed cell growth. Based on the above, cytokine signal inhibitory molecule gene transfer is expected as a new therapeutic method for undifferentiated thyroid cancer.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌 SOCS 遺伝子治療 アデノウイルスベクター

## 様式 C-19、F-19-1、Z-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り、日本においても主たる死因のひとつとなっている。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行われてきたが、進行癌における生存率は未だに約60%前後で十分とはいえない。治療法の選択においては、手術療法では根治性が高いものの、整容面のみならず嚥下、発声障害など日常生活に直結する様々な機能的障害をきたしQOLの低下は避けられない。一方、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遷延し、長期にわたるQOLの低下や誤嚥性肺炎による死亡例が報告されている。また、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、免疫チェックポイント阻害剤についても全身的な副作用に対する厳重な管理が必要となる。若年の頭頸部癌患者のみでなく高齢者も増加傾向を示す社会的な状況から、新たな効果的かつ低侵襲な新たな治療法の開発および集学的治療によるQOLを維持しつつ根治性を高める治療法の開発が急務である。

サイトカインシグナル伝達の異常は頭頸部癌の発症や増殖に関与していることが知られ、とくに JAK/STAT シグナル経路は頭頸部癌において活性化されていることが報告されている<sup>1) 2)</sup>。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）を細胞内に強制発現させることでサイトカインシグナル伝達の下流で作用する様々なチロシンキナーゼを阻害することがわかっている。SOCS を癌細胞に導入することにより、癌の増殖や転移などを抑制することで抗腫瘍効果が期待される。また、最近、SOCS の発現が PD-L1 の発現を抑制し、NK 細胞の活性化をもたらすとの報告がある。

### 2. 研究の目的

頭頸部癌を対象とした低侵襲な集学的治療法の開発を目指して、SOCS を用いた遺伝子治療の臨床応用を視野に入れた分子生物学的研究を計画した。

### 3. 研究の方法

頭頸部癌の培養細胞株に、アデノウイルスベクターを用いてサイトカインシグナル阻害分子（以下：SOCS）を導入し強制発現させ、抗腫瘍効果を検討した。また、STAT3、IL-6 など JAK-STAT 経路に関連する遺伝子について発現を検討した。なお、本研究での *in vivo* 実験では、SOCS の発現状態および導入効率から、培養細胞株としては甲状腺未分化癌の細胞株(8505c)を使用した。当初は、*in vivo* 実験を予定したが、困難な状況となったため計画を変更した。分化癌として手術を施行した症例で、組織学的検査により未分化癌と判明した偶発型未分化癌の関連遺伝子および SOCS3、STAT3、IL-6 など JAK-STAT 経路に関連する遺伝子のコードするタンパクについて免疫組織染色により検討を行い、分化癌の未分化転化のメカニズムに関連する遺伝子の解明を行なった。

### 4. 研究成果

#### ①アデノウイルスベクターによる SOCS3 の導入

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、甲状腺未分化癌培養細胞株である8505Cに導入した。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1)。また、ウェスタンブロット法によりAd-SOCS3によりSOCS3発現がみられるとともに、STAT3、IL-6の発現が低下していた(図2)。

図1

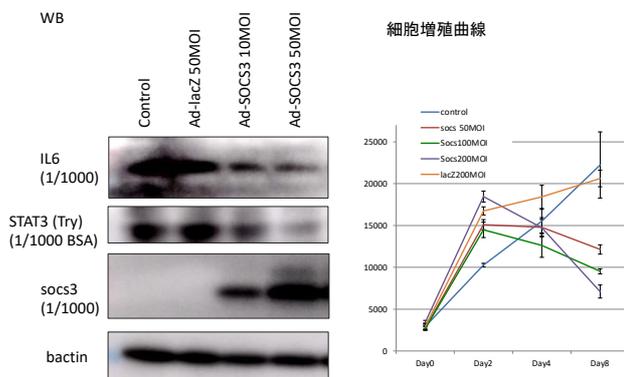
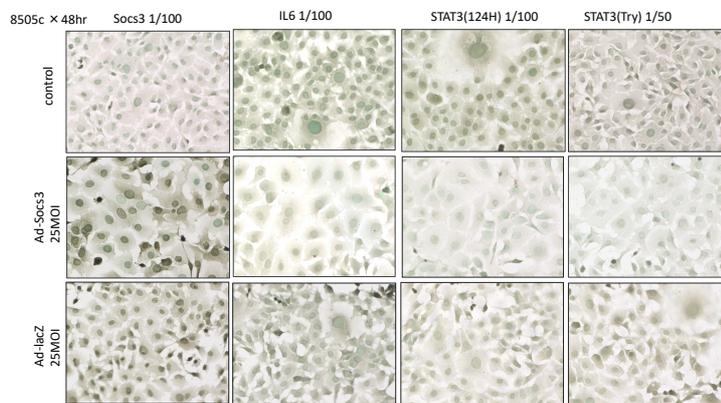


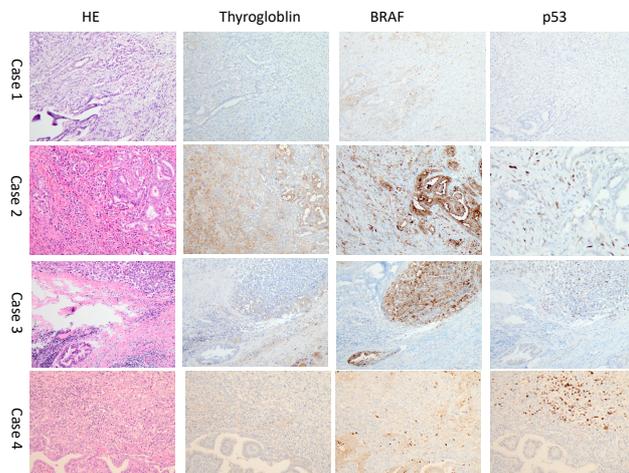
図2



### ②偶発型未分化癌の免疫組織学的研究

甲状腺分化癌として手術を施行した症例で、組織学的検査により未分化癌と判明した偶発型未分化癌の関連遺伝子およびSOCS3、STAT3、IL-6などJAK-STAT経路に関連する遺伝子のコードするタンパクについて免疫組織染色により検討を行った。その結果、すべての例でBRAFの発現が分化癌成分および未分化癌成分の両者で見られたのに対してp53は未分化癌成分のみで発現が認められた。SOCS3などJAK-STAT経路に関連する遺伝子については、免疫組織染色により75%の甲状腺乳頭癌でSOCS3のタンパク発現が認められたが、未分化癌では発現が認められなかった。このことは、SOCS3の発現低下によって未分化癌への転化が引き起こされているという仮説を支持している。

図3



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kitano M, Otsuki N, Ohira N, Kimura T, Horiguchi S, Misako, Shiraishi K, Kobayashi T, Sato M, and Doi K.	4. 巻 6
2. 論文標題 Continuous Submucosal Suture for the Pharyngeal Closure after Total Laryngectomy.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinics in Surgery	6. 最初と最後の頁 3134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 大月直樹	4. 巻 114
2. 論文標題 耳下腺腫瘍手術における合併症 フライ症候群、唾液瘻、ファーストバイト症候群を中心に	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科臨床	6. 最初と最後の頁 889-898
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 大月直樹	4. 巻 93
2. 論文標題 甲状腺癌切除後の気管・喉頭の再建	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科・頭頸部外科	6. 最初と最後の頁 1096-1101
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Otsuki Naoki, Shimoda Hikari, Morita Naruhiko, Furukawa Tatsuya, Teshima Masanori, Shinomiya Hirotaka, Nibu Ken-ichi	4. 巻 67
2. 論文標題 Salvage surgery for structural local recurrence of papillary thyroid cancer: recurrence patterns and surgical outcome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrine Journal	6. 最初と最後の頁 949 ~ 956
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1507/endocrj.EJ20-0152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Otsuki Naoki, Morita Naruhiko, Furukawa Tatsuya, Shinomiya Hirota, Teshima Masanori, Kojima Yasutaka, Nibu Ken-ichi	4. 巻 46
2. 論文標題 Modified spiral tracheoplasty after extensive window resection of trachea for advanced thyroid cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 946 ~ 951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2019.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Otsuki Naoki, Furukawa Tatsuya, Avin?sal Mehmet Ozgur, Teshima Masanori, Shinomiya Hirota, Oshikiri Taro, Nakamura Tetsu, Nomura Tadashi, Hashikawa Kazunobu, Nibu Ken-ichi	4. 巻 47
2. 論文標題 Results of free flap reconstruction for patients aged 80 years or older with head and neck cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 123 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2019.04.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Otsuki Naoki, Morita Naruhiko, Furukawa Tatsuya, Teshima Masanori, Shinomiya Hitomi, Shinomiya Hirota, Nibu Ken-ichi	4. 巻 276
2. 論文標題 Functional and oncological outcomes after retropharyngeal node dissection for papillary thyroid carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Archives of Oto-Rhino-Laryngology	6. 最初と最後の頁 1809 ~ 1814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00405-019-05420-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大月直樹
2. 発表標題 耳下腺手術の推進 耳下腺手術における合併症の予防と対応
3. 学会等名 第34回日本口腔咽頭科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大月直樹
2. 発表標題 唾液腺研究の新機軸：基礎から臨床まで 唾液腺腫瘍の外科治療
3. 学会等名 第65回日本唾液腺学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北野 睦三, 大月 直樹, 堀口 生茄, 木村 隆幸, 西原 美沙子, 佐藤 満雄, 土井 勝美
2. 発表標題 当科における原発性副甲状腺機能亢進症25例の臨床的検討
3. 学会等名 第53回日本内分泌外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 下田 光, 手島 直則, 大月 直樹, 丹生 健一
2. 発表標題 当院における甲状腺癌脊椎転移に対する手術治療の検討
3. 学会等名 第53回日本内分泌外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北野 睦三, 大月 直樹, 西原 美沙子, 佐藤 満雄, 藤原 良平
2. 発表標題 甲状腺原発粘表皮癌の1例
3. 学会等名 第32回日本内分泌外科学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田村 友美, 北野 睦三, 佐藤 満雄, 大月 直樹, 福田 寛二
2. 発表標題 舌癌再建手術後の舌圧と嚥下機能の経過
3. 学会等名 第44回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀口 生茄, 西原 美沙子, 森川 大樹, 佐藤 満雄, 北野 睦三, 大月 直樹, 土井 勝美
2. 発表標題 舌下面に発生したverrucous carcinomaの1例
3. 学会等名 第44回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 大月直樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 中山書店	5. 総ページ数 400
3. 書名 頭頸部悪性腫瘍 臨床薬学テキストシリーズ・血液・造血器/感染症/悪性腫瘍	

1. 著者名 大月直樹	4. 発行年 2021年
2. 出版社 耳鼻咽喉科疾患・喉頭癌 今日の治療指針2021	5. 総ページ数 2224
3. 書名 医学書院	

1. 著者名 福井 次矢 他、大月直樹(分担)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2000
3. 書名 今日の治療指針 2021年版 耳鼻咽喉科疾患 喉頭癌	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	丹生 健一  (Nibu Ken-ichi)  (20251283)	神戸大学・医学研究科・教授    (14501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------