

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：13301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19557

研究課題名（和文）新規生物学的コンセプトを応用した頭頸部ウイルス発癌超早期治療法の開発

研究課題名（英文）Treatment with new biological concept for virus-associated head and neck cancer

研究代表者

吉崎 智一（Yoshizaki, Tomokazu）

金沢大学・医学系・教授

研究者番号：70262582

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：上咽頭癌組織において、上咽頭癌細胞に対して非癌細胞がSpargを発現して抵抗していることを明らかにした。そして、EBV陽性上咽頭癌細胞株HK1-EBVは、EBV陰性上咽頭癌細胞株HK1との細胞競合現象によって排除されること、そしてレスベラドロール添加でHK1-EBVの排除が促進されることを明らかにした。さらにEBV遺伝子LMP1が細胞競合能に最も影響を与えること、LMP1発現細胞とLMP1非発現細胞における細胞競合においてもレスベラドロールはLMP1非発現細胞の細胞競合能を強化することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物発生学における細胞競合理論を癌生物学に応用が試みられてまだ日が浅い今日、EBV陽性上咽頭癌組織においても癌細胞と周辺細胞との間に細胞競合が生じていることを初めて解明した点で意義がある。さらに、がんという立場よりもEBV感染細胞と非感染細胞という視点からの細胞競合と捉え、細胞競合誘導機構としてEBV感染細胞から分泌されるエクソソームに内包される物質がその担い手であることを解明した点は独創性が高い。そして、抗酸化作用を有するレスベラトロール添加が勝者と敗者を逆転させることから、前癌病変の段階での発癌抑制に応用可能であることを明らかにした点で社会還元性が高い。

研究成果の概要（英文）：In the cell competition between the nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells and the surrounding epithelial cells, the former was identified as the WINNER, and the latter as the LOSER which express anti-apoptotic factor SPARC. Culture condition can modify this cell competition. We revealed that addition of resveratrol replaced the WINNER with the LOSER, as a result, HK1-EBV cells were eliminated by HK1 cells. EBV-encoded LMP1 strongly influenced the competition property. The LMP1 positive cells excreted exosomes that contain SPARC-inducing molecules. These exosomes were incorporated in the surrounding normal cells, resulting in SPARC expression in the cells.

研究分野：耳鼻咽喉科・頭頸部外科

キーワード：ウイルス発癌 Epstein-Barr ウイルス ヒトパピローマウイルス 細胞競合

### 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は病因論的に飲酒喫煙癌とウイルス関連癌に大別される。その中でも Epstein-Barr ウイルス (EBV) による上咽頭癌は微増傾向、ヒトパピローマウイルス (HPV) による中咽頭癌は急増し、総じてウイルス関連癌が増加の一途をたどっている。ウイルス感染から発癌に至る過程において、一般にウイルス発癌に対しては、感染予防を目的にワクチンや抗体、臨床的な癌に至った場合には手術・放射線・化学療法で治療される。一方で、上皮細胞感染後に潜伏感染に移行したウイルス駆除に有効な薬剤はなく、感染細胞自身の排除には我々の免疫以外に有効な治療法はない。

子宮頸癌では異形成の段階で早期発見早期治療が可能であるが上咽頭癌はブライントスポットであるため、中咽頭癌は扁桃の内部に位置する陰窩構造にウイルス感染細胞が存在するため、いわゆる早期発見が困難な癌である。一方でこれらの感染細胞の多くは潜伏感染であるが一定のポピュレーションが複製サイクルへと移行し、血液、鼻汁、唾液中に成熟ウイルスが放出されている。

申請者の施設を含め多くの施設で、血液、鼻汁や唾液からウイルス検出法が改良され、再現性のあるスクリーニングが可能となった (Muroso et al, Acta Otolaryngol. 138:483-486, 2018)。これによりウイルスモニタリング継続中に癌として顕在化した場合に早期治療が可能となる。一方で、今日浮かび上がった課題は、検出できても癌化を防止する治療法が確立されていないことである。

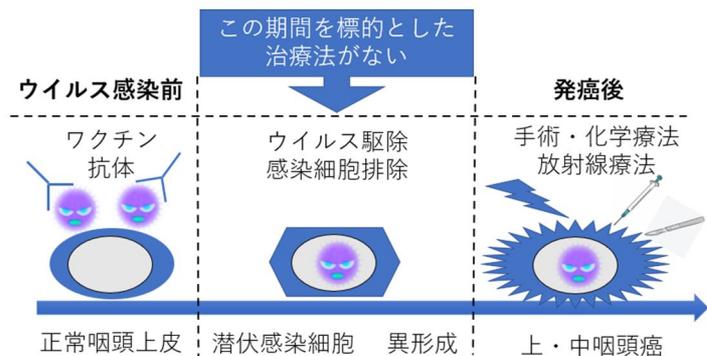
上咽頭癌は発症約 1 - 2 年前から EBV-DNA、EBV 抗体価の上昇が認められる。中咽頭癌では正確な疫学データはないが子宮頸癌における HPV 発癌過程の研究からは感染後 10 数年の経過で癌化に至るケースが多いと考えられている。

### 2. 研究の目的

図のようにウイルス感染から発癌に至る時間軸を考えた場合、この期間に前癌病変とも言える潜伏感染細胞を標的とした治療法を開発することは発癌の制御に極めて重要である。

このウイルス潜伏感染期間に細胞からウイルスを駆除する確率を上げる方法と感染細胞を駆除する方法の2種類のアプローチが可能である。

EBVがヘテロクロマチン領域に結合して存在するウイルスゲノムが多いこと、HPVでは発癌過程で宿主ゲノムへのインテグレーションがすでに起こっている可能性が高くなることを考慮するとウイルス排除を目的とした治療法の確立は困難である。そこで、本申請では近年解明が進みつつある生物学的コンセプトとして、細胞競合によるウイルス感染細胞排除を応用して感染細胞の駆除効率を改良する治療法の開発を目的とする。



### 3. 研究の方法

細胞競合は発生母地が同一であるが隣接する形質が異なる細胞同士のせめぎ合いであ

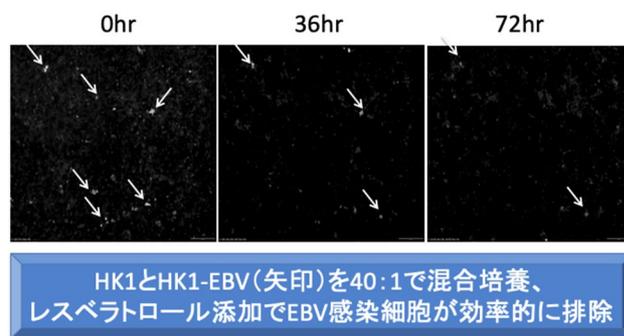
る。当初は発生過程でのみ観察されると考えられていたが、近年、癌組織においても癌細胞と正常細胞が戦っていることが確認された。申請者は上咽頭癌組織において、癌細胞に対して非癌細胞が細胞競合の敗者が発現する抗アポトーシス因子 Sparc を発現して抵抗していることを明らかにした。この細胞競合は癌化する以前のウイルス潜伏感染咽頭上皮細胞とウイルス非感染咽頭上皮細胞にも応用可能であることが予想される。細胞競合の生じるメカニズムは微小環境によって異なると考えられているので、咽頭上皮同士という環境下で正常細胞の競合能を強化してウイルス感染細胞を効率的な排除を促進する方法を開発する。すなわち

- 1) 上咽頭正常上皮細胞株NP69TとそれにGFP-EBVを導入したNP69T-EBVを混合培養する。そして当教室が所有するタイムラプス顕微鏡下に経時的にEBV感染細胞と非感染細胞の細胞競合現象を観察する。
- 2) 上咽頭癌で発現しているEBV遺伝子はEBNA1、LMP1、LMP2である。これらの遺伝子発現をsiRNAを用いて抑制した際の細胞競合現象を観察し、細胞競合に関与するEBV遺伝子を同定する。それと同時にレスベラドロール投与によるEBV陽性細胞の排除増強効果について最適な条件、レスベラドロール投与時のEBV遺伝子発現の変化を比較する。

#### 4. 研究成果

培養細胞を用いた実験ではEBV陽性上咽頭癌細胞株 HK1-EBV は、EBV 陰性上咽頭癌細胞株 HK1 との細胞競合現象によって排除されること、そして細胞競合現象を促進するといわれるポリフェノール抽出物であるレスベラドロール添加でHK1-EBV の排除が促進されることを明らかにした。

本研究の独創性、従来の学術の体系や方向性の大きな変革に寄与する点として、ウイルス感染から臨床的な癌発症に至るまでのプロセスを科学的に捉え「潜伏感染期を前癌病変の初期」であることに発想を転換し、ウイルス感染予防と発癌後には様々な治療法が開発されているがこの時期の治療法はないことに着目した点、その治療法として正常咽頭上皮細胞による細胞競合能のブースト化を応用した点、があげられる。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 14件）

1. 著者名 Mima Masato, Okabe Atsushi, Hoshii Takayuki, Nakagawa Takuya, Kurokawa Tomoya, Kondo Satoru, Mizokami Harue, Fukuyo Masaki, Fujiki Ryoji, Rahmutulla Bahityar, Yoshizaki Tomokazu, Hanazawa Toyoyuki, Misawa Kiyoshi, Kaneda Atsushi	4. 巻 152
2. 論文標題 Tumorigenic activation around HPV integrated sites in head and neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1847 ~ 1862
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.34439	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 Noda Masao, Kuroda Tatsuaki, Nomura Akihiro, Ito Makoto, Yoshizaki Tomokazu, Fushiki Hiroaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Smartphone-Assisted Medical Care for Vestibular Dysfunction as a Telehealth Strategy for Digital Therapy Beyond COVID-19: Scoping Review	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 JMIR mHealth and uHealth	6. 最初と最後の頁 e48638 ~ e48638
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2196/48638	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 Wakisaka Naohiro, Moriyama-Kita Makiko, Kondo Satoru, Kobayashi Eiji, Ueno Takayoshi, Nakanishi Yosuke, Endo Kazuhira, Sugimoto Hisashi, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 193
2. 論文標題 Immune-Related Gene Expression Profile at Peritumoral Tonsillar Tissue Is Modified by Oropharyngeal Cancer Nodal Status	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The American Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 1006 ~ 1012
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2023.04.010	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 Takahashi Shunji, Oridate Nobuhiko, Tanaka Kaoru, Shimizu Yasushi, Fujimoto Yasushi, Matsumoto Koji, Yokota Tomoya, Yamazaki Tomoko, Takahashi Masanobu, et al	4. 巻 27
2. 論文標題 First-line pembrolizumab±chemotherapy for recurrent/metastatic head and neck cancer: Japanese subgroup of KEYNOTE-048	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1805 ~ 1817
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-022-02233-6	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 該当する

1. 著者名 Dochi Hiroto, Kondo Satoru, Murata Takayuki, Fukuyo Masaki, Nanbo Asuka, Wakae Kousho, Jiang Wen Ping, Hamabe Horiike Toshihide, Tanaka Mariko, Nishiuchi Takumi, Mizokami Harue, Moriyama Kita Makiko, Juang Shin Hun, Muramatsu Masamichi, Kaneda Atsushi, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 113
2. 論文標題 Estrogen induces the expression of EBV lytic protein ZEBRA, a marker of poor prognosis in nasopharyngeal carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2862 ~ 2877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15440	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 該当する

1. 著者名 Hirakawa Hitoshi, Matsuzuka Takashi, Uemura Hirokazu, Yoshimoto Seiichi, Miura Kouki, Shiotani Akihiro, Sugasawa Masashi, Homma Akihiro, Yokoyama Junkichi, Tsukahara Kiyoaki, Yoshizaki Tomokazu, Hanai Nobuhiro, Suzuki Hidenori, Suzuki Mikio, Hasegawa Yasuhisa	4. 巻 49
2. 論文標題 Distribution pattern and pathologic analysis of metastatic sentinel and non-sentinel lymph nodes in lymphatic basin dissection for clinical T2/T3 oral cancer with clinical N0 status	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 680 ~ 689
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.11.010	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 Kondo Satoru, Okuno Yusuke, Murata Takayuki, Dochi Hiroto, Wakisaka Naohiro, Mizokami Harue, Moriyama Kita Makiko, Kobayashi Eiji, Kano Makoto, Komori Takeshi, Hirai Nobuyuki, Ueno Takayoshi, Nakanishi Yosuke, Endo Kazuhira, Sugimoto Hisashi, Kimura Hiroshi, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 113
2. 論文標題 EBV genome variations enhance clinicopathological features of nasopharyngeal carcinoma in a non endemic region	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2446 ~ 2456
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15381	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 Kaneda Misako, Yagi-Nakanishi Sayaka, Ozaki Fumi, Kondo Satoru, Mizuguchi Keishi, Kawano Mitsuhiro, Malissen Marie, Malissen Bernard, Yamada Kazunori, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 49
2. 論文標題 Olfactory dysfunction in LATY136F knock-in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 209 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.07.009	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 Endo Kazuhira, Ueno Takayoshi, Hirai Nobuyuki, Komori Takeshi, Nakanishi Yosuke, Kondo Satoru, Wakisaka Naohiro, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 131
2. 論文標題 Low Skeletal Muscle Mass Is a Risk Factor for Aspiration Pneumonia During Chemoradiotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Laryngoscope	6. 最初と最後の頁 E1524-E1529
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/lary.29165	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 Sugimoto Hisashi, Hatano Miyako, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 46
2. 論文標題 In scalp incision technique for cochlear implantation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Otolaryngology	6. 最初と最後の頁 101 ~ 105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/coa.13630	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 Kase Kina, Kondo Satoru, Wakisaka Naohiro, Dochi Hiroto, Mizokami Harue, Kobayashi Eiji, Kano Makoto, Komori Takeshi, Hirai Nobuyuki, Ueno Takayoshi, Nakanishi Yosuke, Hatano Miyako, Endo Kazuhira, Moriyama-Kita Makiko, Sugimoto Hisashi, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 9
2. 論文標題 Epstein-Barr Virus LMP1 Induces Soluble PD-L1 in Nasopharyngeal Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 603 ~ 603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9030603	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 Hasegawa Yasuhisa, Tsukahara Kiyooki, Yoshimoto Seiichi, Miura Kouki, Yokoyama Junkichi, Hirano Shigeru, Uemura Hirokazu, Sugawara Masashi, Yoshizaki Tomokazu, for the HNCMM Research Group	4. 巻 39
2. 論文標題 Neck Dissections Based on Sentinel Lymph Node Navigation Versus Elective Neck Dissections in Early Oral Cancers: A Randomized, Multicenter, and Noninferiority Trial	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 2025 ~ 2036
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1200/JCO.20.03637	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 Makita Haruna, Endo Kazuhira, Kasahara Yoshiya, Nakata Asuka, Moriyama-Kita Makiko, Ishikawa Kazuya, Ueno Takayoshi, Nakanishi Yosuke, Kondo Satoru, Wakisaka Naohiro, Gotoh Noriko, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 21
2. 論文標題 Xenografts derived from patients with head and neck cancer recapitulate patient tumour properties	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 385
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2021.12646	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 Kaneda Misako, Yagi-Nakanishi Sayaka, Ozaki Fumi, Kondo Satoru, Mizuguchi Keishi, Kawano Mitsuhiro, Malissen Marie, Malissen Bernard, Yamada Kazunori, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 49
2. 論文標題 Olfactory dysfunction in LATY136F knock-in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 209 ~ 214
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.07.009	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 Murono Shigeyuki, Komori Takeshi, Endo Kazuhira, Kondo Satoru, Wakisaka Naohiro, Yoshizaki Tomokazu	4. 巻 141
2. 論文標題 Intra-arterial chemotherapy targeting metastatic cervical lymph nodes in head and neck cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Oto-Laryngologica	6. 最初と最後の頁 1063 ~ 1069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/00016489.2021.2003858	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 -

〔学会発表〕 計6件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 吉崎智一
2. 発表標題 耳鼻咽喉科・頭頸部外科漢方研究会の活動について
3. 学会等名 第73回日本東洋医学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomokazu Yoshizaki, Misako Kaneda, Fumi Ozaki, Sayaka Yagi-Nakanishi, Satoru Kondo
2. 発表標題 Analysis of olfactory dysfunction in IgG4-related disease model mouse
3. 学会等名 29th Congress of European Rhinologic Society (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomokazu Yoshizaki, Naohiro Wakisaka, Kazuhira Endo
2. 発表標題 Evolution of ultrasonography sentinel node navigated surgery in the patients with early oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma
3. 学会等名 7th Cancer World Congress (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 近藤 悟、吉崎智一
2. 発表標題 上咽頭癌におけるEBV LMP1によるDNAメチル化誘導機構の網羅的解析
3. 学会等名 第46回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 吉崎 智一
2. 発表標題 生物と無生物のあいだに存在する好奇心をくすぐるもの
3. 学会等名 第1回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー感染症学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉崎 智一
2. 発表標題 思春期のウイルス感染症と頭頸部の疾患
3. 学会等名 北東大阪耳鼻咽喉科臨床懇話会（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 大森 孝一、野中 学、小島 博己	4. 発行年 2022年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 472
3. 書名 標準耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 第4版	

〔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	近藤 悟  (Kondo Satoru)  (70436822)	金沢大学・附属病院・講師   (13301)	

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
---------	---------