

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791949

研究課題名（和文）

ヒト乳頭腫ウイルス（HPV）に関連した喉頭腫瘍に対する喉頭局所免疫の関与

研究課題名（英文）

Immunological responses against human papilloma virus and human papilloma virus induced laryngeal cancer

研究代表者

千年 俊一（CHITOSE SYUNICHI）

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：20299514

研究成果の概要（和文）：喉頭乳頭腫、喉頭癌および喉頭良性疾患において、HPV 陽性腫瘍に対する喉頭局所免疫である抗体の証明を行った。喉頭分泌液および静脈血中の各免疫グロブリン（IgM、IgG、IgA、分泌型 IgA）濃度、総タンパク質濃度、Cytokeratin19 fragment 濃度を測定した。さらに、腫瘍と特異的 HPV 抗体の局在解明を試みた。結果、疾患の内訳は喉頭癌 12 例、喉頭乳頭腫 4 例、他の喉頭疾患 15 例であった。HPV 陽性例は 31 例中 6 例あった。内訳は High Risk 型（すべて 16 型 DNA）が 3 例ですべて喉頭癌（T1a：1 例、T2：2 例）であり、Low Risk 型が 3 例ですべて喉頭乳頭腫であった。本検討での喉頭癌からの HPV 陽性率は 12 例中 3 例の 25% であった。HPV 陽性 6 例は HPV 陰性 25 例に対して各分泌液組成の濃度が高い傾向があり、特に S-IgA において有意差を認めた。喉頭癌例は非喉頭癌例に対して、分泌液組成の濃度が高い傾向にあった。HPV 陽性例の分泌液中の S-IgA 濃度上昇していたという結果は、喉頭局所での HPV 感染に対する抗原抗体反応と考えられた。また、HPV 陽性喉頭癌 3 例は HPV 陰性喉頭癌 9 例に対して、各分泌液組成の濃度が高い傾向にあった。HPV 陽性癌腫の発現により粘膜免疫が活性化し、異物排除や治癒機転として強く発現していることが示唆される。少なくとも HPV の喉頭上皮内への進入や喉頭感染後の播種に対して、S-IgA は活性化し抑制的に働いていると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Objective: This study aimed to clarify the local immune status in the larynx in the presence of infection or carcinogenesis associated with human papilloma virus. Methods: Cytological samples (for human papilloma virus detection) and laryngeal secretions (for immunoglobulin assessment) were obtained from 31 patients with laryngeal disease, during microscopic laryngeal surgery. On histological examination, 12 patients had squamous cell carcinoma, four had laryngeal papilloma and 15 had other benign laryngeal disease. Cytological samples were tested for human papilloma virus DNA using the Hybrid Capture 2 assay. Results: High risk human papilloma virus DNA was detected in 25 per cent of patients (three of 12) with laryngeal cancer. Low risk human papilloma virus DNA was detected only in three laryngeal papilloma patients. The mean laryngeal secretion concentrations of immunoglobulins M, G and A and secretory immunoglobulin A in human papilloma virus DNA positive patients were more than twice those in human papilloma virus DNA

negative patients. A statistically significant difference was observed between the secretory immunoglobulin A concentrations in the two groups. Patients with laryngeal cancer had higher laryngeal secretion concentrations of each immunoglobulin type, compared with patients with benign laryngeal disease. The study assessed the mean laryngeal secretion concentrations of each immunoglobulin type in the 12 laryngeal cancer patients, comparing human papilloma virus DNA positive patients ( $n = 3$ ) and human papilloma virus DNA negative patients ( $n = 9$ ); the mean concentrations of immunoglobulins M, G and A and secretory immunoglobulin A tended to be greater in human papilloma virus DNA positive cancer patients, compared with human papilloma virus DNA negative cancer patients. Conclusion: These results suggest that the local laryngeal immune response is activated by infection or carcinogenesis due to human papilloma virus. The findings strongly suggest that secretory IgA has inhibitory activity against infection or carcinogenesis associated with human papilloma virus in the larynx.

#### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：乳頭腫、喉頭、癌化、防御反射、感染防御

#### 1. 研究開始当初の背景

喉頭には局所粘膜免疫機構があるにもかかわらず、HPV は喉頭上皮内に感染・増殖し、特に 16.18 型など high risk 群 HPV に至っては癌化を誘発することがある。近年、high risk 群 HPV が癌化を促すメカニズムを遺伝子レベルで検討している研究は多くみられるようになったが、免疫応答の立場から喉頭における HPV 感染の成立機序や喉頭乳頭腫に代表される腫瘍性の増殖形態および喉頭癌における癌化誘発のメカニズムについて研究している報告はない。これまでに我々は、喉頭疾患症例を対象に喉頭分泌液中の免疫グロブリンや扁平上皮癌に特異的な蛋白の定量解析、そして病変部からの HPV-DNA の遺伝子検出を試みてきた。現在までのところ、喉頭乳頭腫および喉頭扁平上皮癌の HPV 感染陽性例では免疫グロブリンの発現がコントロール群より有意に多いことを証明した。

つまり、喉頭局所では癌腫を含めた腫瘍による細胞障害や HPV 感染などの環境の変化に反応して粘膜免疫が活性化し、異物排除や治癒機転が強くと発現していると考えられる。しかし、上皮内で感染増殖した HPV が生体内における抗体産生により直接的な免疫反応を受けていることの根拠にするには不十分と思われる。そこで、HPV の感染増殖とこれにより生じる液性免疫応答を視覚的に検証する必要がある。また、喉頭における HPV 感染予防あるいは治療を目的として、生体内への HPV ワクチンを用いた液性免疫の活性化の意義は大きいものと思われる。

#### 2. 研究の目的

喉頭におけるヒト乳頭腫ウイルス (Human Papilloma Virus; HPV) の感染と腫瘍化によって引き起こされる局所免疫応答を免疫学および病理組織学的手法にて解析し、感染予防あるいは腫瘍に対する治療として免疫

活性を行なう意義を検証する。

### 3. 研究の方法

喉頭乳頭腫および HPV 陽性喉頭癌における HPV-DNA 6.11.16.18 型の局在をそれぞれ免疫学的手法を用い顕微鏡レベルで示す。同時に、腫瘍内部および周囲での抗 HPV-DNA 抗体の局在を明らかにする。両者の局在の相関性を確認した後、HPV-DNA 6.11.16.18 型に対する HPV ワクチンを用いた免疫活性により抗体の産生量を評価する。

### 4. 研究成果

研究対象における HPV 陽性例は 31 例中 6 例であった。6 例の内訳は、HPV DNA の High Risk 型が 3 例ですべて喉頭癌 (T1a : 1 例、T2 : 2 例) であり、Low Risk 型が 3 例ですべて喉頭乳頭腫であった。喉頭癌からの HPV 陽性率は、12 例中 3 例の 25% であった。免疫学的検討では、HPV 陽性 6 例は HPV 陰性 25 例に対して各分泌液組成の濃度が高い傾向があり、特に Secretary(S)-IgA において有意差を認めた。また、喉頭癌例は非喉頭癌例に対して、分泌液組成の濃度が高い傾向にあった。さらに、HPV 陽性喉頭癌 3 例は HPV 陰性喉頭癌 9 例に対して、各分泌液組成の濃度が高い傾向にあった。本研究は、S-IgA が少なくとも HPV の喉頭上皮内への進入や喉頭感染後の播種に対して活性化し抑制的に働いていることを示した。本研究は、喉頭局所での HPV 感染や HPV 陽性癌腫の発現により粘膜免疫が活性化し、異物排除や治癒機転として強く発現していることを裏付ける根拠といえる

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- 1) Chitose S, Chijiwa H, Maeda A, et al:  
Evaluation of overall tumor cellularity after neoadjuvant chemotherapy in patient with

locally advanced hypopharyngeal cancer.

Eur Arch Otorhinolaryngol

268:2391-2399,2012. 査読あり

- 2) Chitose S, Kikuchi A, Ikezono K, et al:  
Effect of laser arytenoidectomy on respiratory stridor caused by multiple system atrophy. J Clin Sleep Med. May 2, 2012.  
[Epub ahead of print] 査読あり
- 3) Umeno H, Chitose S, Sato K, et al:  
Long-term postoperative vocal function after thyroplasty type I and fat injection laryngoplasty. Ann Otol Rhinol Laryngol 121:185-191, 2012. 査読あり
- 4) Chitose S, Sato K, Hamakawa S, et al: A new paradigm of endoscopic cricopharyngeal myotomy with CO2 laser. Laryngoscope 121:567-570, 2011. 査読あり
- 5) Sato K, Umeno H, Chitose S, et al:  
Sleep-related deglutition in patients with OSAHS under CPAP therapy. Acta Oto-Laryngologica 131:181-189,2011. 査読あり
- 6) Sato K, Umeno H, Chitose S, et al:  
Deglutition and respiratory patterns during sleep in younger adults. Acta Oto-Laryngologica 131:190-196,2011. 査読あり
- 7) Nakashima T, Tomita H, Chitose S: Evidence of the local immune status in the human larynx. Adv Otorhinolaryngol 172:100-102,2011. 査読あり
- 8) Chitose S, Sakazaki T, Ono T, et al:  
Immunological responses against human papillomavirus (HPV) and HPV induced cancer in the human larynx. J Laryngol Otol 124, 659 -662,2010. 査読あり

〔学会発表〕（計 11 件）

- 1) 千年 俊一, 梅野 博仁, 他: 「一側性喉頭麻痺の診断と治療の流れ」第 64 回日本気管食道科学会 パネルディスカッション 2012.11.8-9 東京
- 2) 千年 俊一: 「高齢化社会に向けての嚥下障害の取り扱い」高齢者の嚥下障害に対する手術. 第 57 回 日本音声言語医学会シンポジウム 2012.10.18-19 大阪
- 3) 千年 俊一: 「摂食嚥下障害領域の外科治療」内視鏡下輪状咽頭筋切断術 第 37 回日本外科系連合学術集会 シンポジウム 2012.6.28-29 福岡
- 4) Shunichi Chitose, Masahiro Haraguchi, et al: Use of Dynamic Magnetic Resonance Imaging During Swallowing in Assessment Of Neck Metastasis with Carotid Artery Invasion. 8<sup>th</sup> International Conference on Head and Neck Cancer. 2012.6.21-25 Toronto
- 5) 千年 俊一: 「頭頸部癌治療後の嚥下障害に対する診断および対応」拡大手術後の嚥下障害. 第 36 回 日本頭頸部癌学会シンポジウム 2012.6.7-8 松江
- 6) 千年 俊一, 中園 秀樹、他: 低侵襲な観血的整復術を行った外傷性輪状軟骨多発骨折症例. 第 113 回 日本耳鼻咽喉科学会 2012.5.10-12 新潟
- 7) 千年 俊一, 永田 圭, 他: 喉頭垂直部分切除術後の長期経過で生じた声門狭窄に対して外科治療を行った 1 例. 第 24 回 日本喉頭科学会 2012.3.8-9 金沢
- 8) 栗田 卓, 千年 俊一, 他: 再発を繰り返した成人型喉頭乳頭腫症例. 第 24 回日本喉頭科学会 2012.3.8-9 金沢
- 9) 千年 俊一, 他: 「嚥下障害診療におけるトピックス」内視鏡下輪状咽頭筋切断術. 第 35 回 日本嚥下医学会 教育セミナー 2012.2.10-11 高知

- 10) 千年 俊一, 原口 正大, 他: 動的MRI を用いた頸部リンパ節転移頸動脈浸潤の評価の可能性. 第 22 回 日本頭頸部外科学会 2012.1.26-27 福島
- 11) 三橋拓之, 千年 俊一, 他: 薬剤感受性から見た扁平上皮癌における Human Papillomavirus 局在と Y-ボックス混合タシパク I 発現の意義. 第 63 回日本気管食道科学会 2011.11.11 名古屋

〔図書〕（計 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

千年 俊一 (CHITOSE SYUNICHI)  
久留米大学・医学部・講師  
研究者番号：20299514

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：