

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 13 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462683

研究課題名(和文) 頭頸部癌に対するヒト乳頭腫ウイルス遺伝子を標的とした集学的治療の開発

研究課題名(英文) Combined modality therapy targeting HPV oncogene for head and neck cancer

研究代表者

大月 直樹(Otsuki, Naoki)

神戸大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40343264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌の発癌要因として喫煙・アルコールの関与が知られているが、近年ヒト乳頭腫ウイルス(以下HPV)の関与が指摘されている。HPV癌遺伝子であるE6とE7遺伝子の抑制を効率的に行なうためにE6とE7遺伝子に対するアンチセンスRNAを組み込んだアデノウイルスベクターを作成し、HPV陽性の頭頸部癌細胞株に導入することで、その細胞殺傷効果が確認された。また、腫瘍移植マウスを用いた実験においては、シスプラチンの腹腔内投与に加えこのウイルスベクターの局所投与を併用することにより、シスプラチン単独投与に比べ腫瘍の増殖が抑制され相乗効果が認められることが確認された。

研究成果の概要(英文)：HPV infection is one of the etiologic factor of head and neck cancer. The E6 and E7 genes of HPVs encode proteins, that interfere with function of the function of the tumor suppressor proteins p53 and Rb. We explored the potential use of antisense HPV RNA transcripts for gene therapy for HPV-positive head and neck cancers. We introduced the antisense RNA transcripts of E7 gene of HPV type 16 into human oral cancer SCC-47 cells harboring HPV 16 via recombinant adenoviral vector, Ad-AS E7. After infection, cell growth and tumorigenicity were suppressed in vitro. Moreover, we studied the effect of Ad-AS E7 as a potential chemosensitizer of cisplatin (CDDP). The combination of CDDP and Ad-AS E7 treatment was significantly superior to either modality alone. Our results suggest that introduction of Ad-AS E7 may be an effective sensitizer of CDDP chemotherapy in HPV-positive head and neck cancers.

研究分野：耳鼻咽喉科学

キーワード：ヒト乳頭腫ウイルス 遺伝子治療 頭頸部癌

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌の発癌要因として喫煙・アルコールの関与が知られているが、近年ヒト乳頭腫ウイルス（以下 HPV）の関与が指摘されている。疫学的研究においては頭頸部癌のうち舌癌、咽頭癌の増加傾向が報告され、とくに中咽頭癌の増加と約50%にHPVの関与が示されている。一方、臨床的研究においてはHPVの関与の有無により臨床像が異なることが示されているが、HPV 遺伝子およびその関連遺伝子が臨床的特徴に關与するメカニズムについては未だ明らかになっていない。今後増加すると予測される HPV 陽性の頭頸部癌を対象とした研究を行うことは、頭頸部癌に対する新たな治療戦略を見いだすための鍵になるものと考えられる。

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試みられてきた。しかし、進行癌における生存率は未だに約 50%前後で満足できる成果があげられていない。手術療法では根治が望めるものの、整容面はもちろん嚥下、発声障害など様々な機能的障害をきたし QOL の低下は避けられない。化学放射線療法においては形態学的な臓器保存はできるものの、嚥下障害や唾液分泌障害など機能的障害に伴う後遺症が問題視されている。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、効果的かつ低侵襲な新たな治療法の開発が望まれている。

## 2. 研究の目的

頸部癌の発生、浸潤、転移においてヒト乳

頭腫ウイルス（以下 HPV）遺伝子およびその関連遺伝子が關与するメカニズムを明らかにするとともに、HPV 陽性頭頸部扁平上皮癌に対する HPV 癌遺伝子を標的とした遺伝子治療と化学療法または放射線治療を組み合わせた効果的かつ低侵襲な新しい集学的治療の臨床応用まで視野に入れた開発を目的とする

## 3. 研究の方法

HPV 陽性扁平上皮癌の培養細胞株に、アデノウイルスベクターを用いて HPV ゲノムのコードする E6、E7 に対するアンチセンス RNA の導入を行い、細胞の増殖、形態、細胞周期にどのような変化をもたらすかを検討する。ヌードマウスに HPV 陽性扁平上皮癌の培養細胞株を移植したモデルを用いアンチセンス RNA と、シスプラチン（CDDP）併用での抗腫瘍効果を *in vitro* および *in vivo* レベルでの検討を行う。

## 4. 研究成果

HPV 陽性頭頸部扁平上皮癌細胞株 (SCC-47) に E7 に対するアンチセンス RNA (Ad-AS E7) の導入することにより、*in vitro* 実験において細胞殺傷効果が認められた。また、低容量のシスプラチンの投与と Ad-AS E7 を組み合わせることで、効果が増強することが示された (図 1)。腫瘍細胞を移植したヌードマウスを用いた *in vivo* 実験においては、Ad-AS E7 単独、CDDP 腹腔内投与単独ではコントロールとの差がなかったが、両者を併称することで腫瘍の増殖抑制が認められた (図 2)。

図1 培養細胞増殖抑制効果（細胞数）

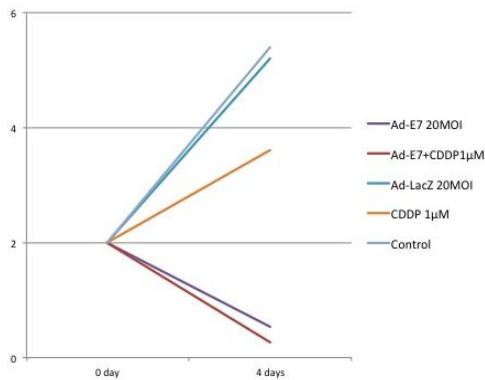
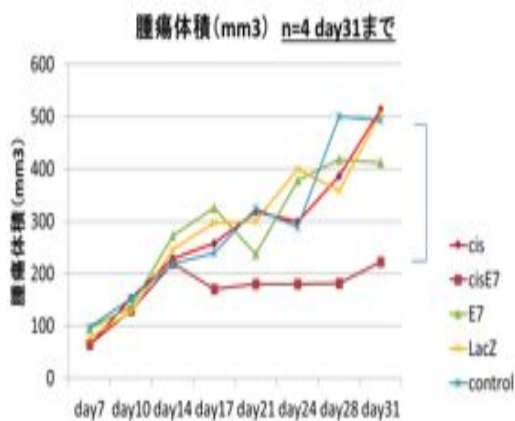


図2



本研究の成果については現在投稿準備中である。

### 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4件)

1, Gene silencing with siRNA targeting E6/E7 as a therapeutic intervention against head and neck cancer-containing HPV16 cell lines. Adhim Z, Otsuki N, Kitamoto J, Morishita N, Kawabata M, Shirakawa T, Nibu K. Acta Otolaryngol. 133(7):761-71. 2013

2, 進行期 (Stage / ) 喉頭癌・下咽頭癌の治療戦略. 大月直樹, 四宮弘隆, 丹生健一.

頭頸部癌 40, 406-411, 2014

3, 進行喉頭癌・下咽頭癌 (T3, T4) の治療. 大月直樹, 四宮弘隆, 丹生健一他. 頭頸部外科 25 269-274, 2015.

4, 中咽頭癌-HPV の視点からみた大きな変化手術治療後のリハビリテーションは? . 大月直樹, 丹生健一. JOHNS 32 371-374, 2016.

[学会発表](計10件)

1, Naoki Otsuki, Ken-ichi Nibu. Management of locally advanced thyroid cancer. Trachea and Larynx Panel Discussion 1<sup>th</sup> Congress of Asia-Pacific thyroid surgery, 2015/11/19, ソウル (韓国)

2, 大月直樹, 四宮弘隆, 小松弘和, 森本浩一, 斎藤幹, 丹生健一: 進行喉頭癌・下咽頭癌に対する治療-手術と化学放射線療法を選択, 第25回日本頭頸部外科学会, シンポジウム, 2015/1/29, コングレコンベンションセンター (大阪)

3, Naoki Otsuki, Zainal Adhim, Junko Kitamoto-Mtsuda, Toshiro Shirakawa, Ken-ichi Nibu: HPV Targeted Genetherapy for Head and Neck Cancers, 5<sup>th</sup> World Congress of IFHNOS and Annual Meeting of the AHNS, 2014/6/26-30, E-poster, ニューヨーク (アメリカ)

4, Naoki Otsuki International Forum (Japanese) Laryngeal Function Preserving Strategy for Head and Neck Cancer, 5<sup>th</sup> World Congress of IFHNOS and Annual Meeting of the AHNS, 2014/6/29 ニューヨーク (アメリカ)

5, Ken-ichi Nibu, Koichi Morimoto, Miki Saito, Naoki Otsuki, Hiroataka Shinomiya. Partial laryngectomy for radiation-failure. 5<sup>th</sup> World Congress of IFHNOS and Annual Meeting of the

AHNS, 2014/6/26-30, ニューヨーク (アメリカ)

6, Naoki Otsuki, Miki Saito, Ken-ichi Nibu. Partial Laryngectomy for Laryngeal Cancer after Failure of Radiotherapy or Chemoradiotherapy. Symposium, 20<sup>th</sup> IFOS World Congress 2013/6/3, ソウル (韓国)

7, Naoki Otsuki Tumor Board: Thyroid Cancer (Thyroid Cancer Case Conference) Panel Discussion 5<sup>th</sup> World Congress of IFHNOS and Annual Meeting of the AHNS, 2014/6/27, ニューヨーク (アメリカ)

8, 大月直樹, 四宮弘隆, 小松弘和, 森本浩一, 齋藤幹, 清田尚臣, 佐々木良平, 丹生健一, 進行頭頸部がんに対する治療戦略-進行喉頭癌・下咽頭癌に対する治療戦略- 第38回日本頭頸部癌学会, シンポジウム, 2014/6/13, 東京ファッションタウンビル (東京)

9, Naoki Otsuki Debates in the Management of Thyroid Cancer, 15<sup>th</sup> Korea-Japan Joint Meeting of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery. 2014/4/4,

10, Naoki Otsuki, Therapeutic strategies for Head and Neck Cancer associated with Esophageal Cancer 18<sup>th</sup> WCBIP/WCBE World Congress, 2014/4/14, 京都国際会館 (京都)

〔図書〕(計2件)

1, 大月直樹, 丹生健一: EBM 耳鼻咽喉科・頭頸部外科の治療 2015-2016 頸部郭清先行化学放射線療法のエビデンスは? 池田勝久, 武田憲昭, 香取幸夫, 原淵保明, 丹生

健一, 559-563頁, 中外医学社, 東京, 2015  
2, 丹生健一, 佐々木良平, 大月直樹, 大田史江: 他職種チームで実践する頭頸部がんの化学放射線療法, 総263頁, 日本看護協会出版会, 東京, 2015

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

取得状況 (計0件)

〔その他〕

該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大月直樹 ( OTSUKI NAOKI )  
神戸大学・医学研究科・准教授  
研究者番号: 4034264

### (2) 研究分担者

丹生健一 ( NIBU KENICHI )  
神戸大学・医学研究科・教授  
研究者番号: 20251283

### (3) 研究分担者

白川利朗 ( SHIRAKAWA TOSHIRO )  
神戸大学・保健学研究科・教授  
研究者番号: 70335446

### (4) 連携研究者

該当なし