

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 14 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462693

研究課題名(和文)ミセル化抗癌剤による頭頸部癌の転移リンパ節を標的とした新規リンパ管化学療法の開発

研究課題名(英文)A novel lymphatic chemotherapy targeting metastatic lymph nodes in patients with head and neck cancer using anti-cancer drugs combined with micelle

研究代表者

横山 純吉(Junkichi, Yokoyama)

杏林大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：60312584

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：頭頸部癌の最大の予後因子である転移リンパ節の制御にリンパ管を利用したlymphatic chemotherapyを頭頸部癌で確立し、選択的に低侵襲に転移リンパ節を治療する画期的な治療の実用化を目指した基礎研究である。本治療の確立には抗癌剤を効率的にリンパ管経由で転移リンパ節に運ぶDrug Delivery System(DDS)の確立が必要である。DDSは、縦隔リンパ節等の遠位の転移リンパ節にも効率よく集積する最適な薬剤と形態が必要である。最適な薬剤はリンパ節指向性が強いミセル化したCDDPを使用し、抗癌剤の移動をICG蛍光法で可視化した。有用性をリンパ節内CDDP濃度と病理学的検討した。

研究成果の概要(英文)：Neck lymph node metastasis is the most significant prognostic factor of head and neck cancer. According to the Sentinel theory, metastatic lymph nodes are directly connected with primary tumors via lymphatic canals. Lymphatic chemotherapy is defined as chemotherapy using lymphatic canals between metastatic lymph nodes and primary tumors. As an ultimate cancer treatment which is both highly effective and noninvasive, the current study is to establish a novel lymphatic chemotherapy targeting metastatic lymph nodes in patients with head and neck cancer using anti-cancer drugs combined with micelle. The ICG fluorescence imaging effectively reveals the lymphatic vessels to the metastatic lymph nodes in real time.

We have evaluated the usefulness of lymphatic chemotherapy targeting neck metastases in patients with head and neck cancer by measuring CDDP concentrations in metastatic lymph nodes and pathological effects

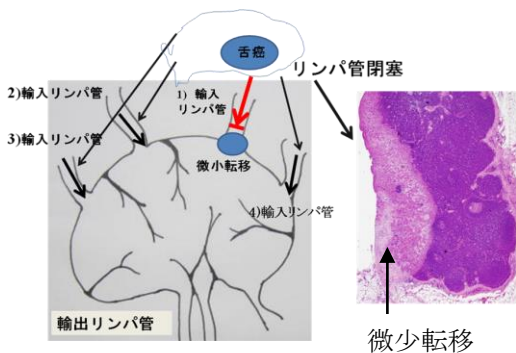
研究分野：医歯薬

キーワード：リンパ管化学療法 センチネルリンパ節 低侵襲治療 ドラッグデリバリーシステム targeting Chemo therapy navigation surgery ICG蛍光法

### 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌において、転移リンパ節の制御が最大の予後因子である。臨床的にリンパ節転移を認めないN0症例でも術後の後発転移は予後不良のため、予防的頸部郭清術が施行されるが、術後の構音障害や嚥下障害などの機能障害が出現する場合がある。更に、skip metastasisと呼ばれる通常の郭清範囲を飛び越して15.8%の舌癌症例にlevel III、IVのみ転移を認めるとの報告もあり、リンパ節の制御はN0と思われる症例でも複雑で対処困難である。

原発巣と転移リンパ節はリンパ管で連続しているためリンパ管を利用した低侵襲治療としてLymphatic chemotherapyが注目されている。原発巣に抗癌剤が注入すると、リンパ管を介して効率的に転移リンパ節に抗癌剤が移動し、高濃度の抗癌剤が集積する。しかし、微小転移リンパ節でも輸入リンパ管が閉塞し、センチネルリンパ節の検出不能例や、抗癌剤濃度が低い場合があり、十分な効果が得られてない。



微小リンパ節転移による輸入リンパ管閉塞

### 2. 研究の目的

抗癌剤がリンパ管経路でリンパ節に移行し、リンパ節に集積して長時間作用を発揮するリンパ指向性の高い最適なミセル化した抗癌剤のDrug delivery systemの開発と実用化である。

### 3. 研究の方法

Drug Delivery Systemの確定

ミセル化した抗癌剤(CDDP)を作成し転移リンパ節に選択的に集積する効果的なTargeting Chemotherapyに最適なミセル化した抗癌剤の有効性を検討する。

- (1) 好転移性のVX2扁平上皮癌をNZWに移植し、頭頸部癌の転移モデルを作成する。2週後に頸部リンパ節転移巣を確認し、原発巣にミセル化したCDDPを投与する。
- (2) 投与後1日、3日、7日、14日にリンパ節を採取し、抗癌剤の濃度と病理学的効果と安全性を判定する。リンパ節採取時、ICG蛍光法によりセンチネルリンパ節(転移)と近傍の非

転移リンパ節とリンパ管を可視化し、区別する。また、治療効果判定にはApoptosis、転移リンパ節増殖抑制率、制御率等により病理学的に判定する。

### 4. 研究成果

(1)抗癌剤(CDDP)の濃度

センチネルリンパ節と非センチネルリンパ節のCDDPを比較検討すると、センチネルリンパ節のCDDP濃度は非センチネルリンパ節のCDDPに比べ有意に増加していた(p<0.05)。

(2)病理学的効果

センチネルリンパ節のApoptotic Index(AI)をコントロール群と比較検討すると、センチネルリンパ節のAIがコントロール群のAIに比べ有意に増加していた(p<0.05)。

原発巣に投与された抗癌剤がSN理論によりリンパ管を経由し、転移リンパ節に移行しリンパ節に集積し、持続的に効果を発揮するのをICG蛍光法により可視化することにより確実に検証できた。

ミセル化したCDDPのLymphatic chemotherapyは効率的にリンパ管経路で転移リンパ節に集積し持続的な効果を発揮する低侵襲で画期的なTargeting Chemotherapyとして期待できる。

### 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29件)

1. N Wakisaka, Y Hasegawa, S Yoshimoto, K Miura, A Shiotani, J Yokoyama, et al.  
Primary Tumor-Secreted Lymphangiogenic Factors Induce Pre-Metastatic Lymphovascular Niche Formation at Sentinel Lymph Nodes in Oral Squamous Cell Carcinoma\_PLoS ONE 12/2015;  
10(12):e0144056. doi: 10.1371/journal.pone.0144056. eCollection 2015.
2. J Yokoyama, S Ohba, M Kojima, et al.  
Minimally Invasive Transoral Surgical Treatment for Oropharyngeal Carcinoma. Current Cancer Therapy Reviews, 2015;  
11(1): 21-26. DOI: 10.2174/1573394711666150428003125

3. Enyinnaya Ofo, J Yokoyama. Rapidly Increasing Trends in Oropharyngeal Carcinoma Assessed by Worldwide Epidemiologic Analysis. *Current Cancer Therapy Reviews*, 2015; 11(1): 15-20. DOI: 10.2174/1573394711666150428003039
4. A Shimizu, M Suzuki, S Krishnan and J Yokoyama. Epoch-making Treatment with Transoral Robotic Surgery for Oropharyngeal Carcinoma. *Current Cancer Therapy Reviews*, 2015; 11(1): 27-32. DOI: 10.2174/1573394711666150428002953
5. S Ohba, J Yokoyama, M Kojima and M Sakai. Chemoradiation for Oropharyngeal Carcinoma for Organ Preservation. *Current Cancer Therapy Reviews*.2015;11(1): 33 – 37 DOI: 10.2174/1573394711666150428003349
6. M Sakai, J Yokoyama, et al. A novel procedure combining transoral resection and set-back tongue flap for oropharyngeal cancer *Acta Oto-Laryngologica* 2015; 135:736-40.doi: 10.3109/00016489.2015.1011790
7. T Inaba, Y Fukumura, T Saito, J Yokoyama, et al. Cytological features of mammary analogue secretory carcinoma of the parotid gland in a 15-year-old girl. *Case Reports in Pathology*.2015;2015:656107.doi.org/10.1155/2015/656107.
8. J Yokoyama, S Ohba, Shin I, M Fujimaki, M Kojima, K Ikeda. Removing mastoid tip procedure for advanced parotid cancer results in easy identification of the facial nerve and adequate surgical margin. *J Otol Rhinol* 2015, S1:1 doi.org/10.4172/2324-8785.S1-007.
9. S Ohba, J Yokoyama, M Fujimaki, S Ito, K Ikeda. A novel functional reconstruction method for recurrent laryngeal cancer after vertical partial laryngectomy.*J Otol Rhinol* 2015, S1:1doi.org/10.4172/2324-8785.S1-011.
10. T Anzai, J Yokoyama, S Ohba, M Fujimaki, M Kojima, et al. Antegrade Bipedicled Submental Island Flap for Anterior Oropharyngeal Defect Reconstruction after Ablative Surgery. *J Otol Rhinol* 2015, S1:1 doi.org/10.4172/2324-8785.S1-016.
11. M Kojima, J Yokoyama, S Ohba, M Fujimaki, et al Problems associated with vacuum -assisted closure system in postoperative head and neck fistula. *J Otol Rhinol* 2015, S1:1doi.org/10.4172/2324-8785.S1-014.
12. A Hayashi, J Yokoyama, et al. Massive myoepithelial carcinoma originating from the submandibular gland that was successfully treated with surgical excision using a part of the lengthened skin as a local flap *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2015;3(3):e329. doi: 10.1097/GOX.0000000000000296. eCollection 2015
13. S Ohba, J Yokoyama, M Kojima, M Fujimaki, et al. Significant Preservation of Swallowing Function in Chemoradiotherapy for Advanced Head and Neck Cancer by Prophylactic Swallowing Exercise. *Head Neck*. 2016 ;38(4):517-21. doi: 10.1002/hed.23913
14. K Ito, J Yokoyama, et al. Volumetric comparison of positron emission tomography/computed tomography using 4'-[methyl-11C]-thiothymidine with 2-deoxy-2-18F-fluoro-D-glucose in patients with advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Nuclear Medicine Communications*:2015 ;36(3):219-25. doi: 10.1097/MNM.0000000000000241

15. J Yokoyama, M Yazawa , H Yoshimoto, S Matsuo, S Ohba Advantages of superficial femoral vein grafts for carotid artery reconstruction following carotid artery resection in the treatment of head and neck cancer. *Acta Oto-Laryngologica*. 2015;135: 302–306. doi: 10.3109/00016489.2014.956336
16. F Matsumoto, M Fujimaki, S Ohba, M Kojima, J Yokoyama, K Ikeda. Relation between insulin-like growth factor-1 receptor and human papilloma virus in patients with oropharyngeal cancer *Head & Neck*. 2015; 37(7):977-81. doi: 10.1002/hed.23702.04/2014;
17. J Yokoyama, M Yazawa , H Yoshimoto, S Matsuo, S Ohba Advantages of superficial femoral vein grafts for carotid artery reconstruction following carotid artery resection in the treatment of head and neck cancer. *Acta Oto-Laryngologica*. 2015,135: 302–306.
18. S Ohba, J Yokoyama, M Fujimaki ,M Kojima, et al. A novel procedure for transtracheal resection for recurrent thyroid cancer involving a trachea and esophagus. *World J Surg Oncol*. 2014, **12**:303 doi:10.1186/1477-7819-12-303
19. J Yokoyama, S Ohba, M Fujimaki, T Anzai, M Kojima, et al. Impact of intra-arterial chemotherapy including internal carotid artery for advanced paranasal sinus cancers involving the skull base. *British Journal of Cancer* (2014), 111(12):2229-34. doi: 10.1038 /bjc.2014.501.
20. R Yoshii, J Yokoyama, S, Ohba, et al. Impact of EPA nutritional approach on cachexic patients with advanced hypopharyngeal cancer treated by induction chemotherapy. *Head and Neck Oncology*: 2014,10;6(2):18.
21. J Yokoyama , M Yazawa, H Yoshimoto, S Ohba. A novel procedure for reconstruction utilizing superficial femoral vein grafts following en bloc resection of carotid artery and head and neck malignant tumors. *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 2014;19(2):175-7 DOI: 10.1093/icvts/ivu112.
22. K Ito, K Shimoji, Y Miyata, K Kamiya, R Minamimoto, K Kubota, M Okasaki, M Morooka, J Yokoyama. Prognostic value of post-treatment 18F-FDG PET/CT for advanced head and neck cancer after combined intra-arterial chemotherapy and radiotherapy. *Chin J Cancer Res* 2014 Feb;26(1):30-7
23. J Yokoyama, S Ohba, M Fujimaki, T Anzai, M Kojima, K Ikeda. Impact of removing mastoid process for advanced parotid cancer on facial nerve identification, preservation and reconstruction. *Head & Face Medicine* 2014, **10**:6 doi:10.1186/1746-160X-10-6.
24. J Yokoyama, S Ohba, M Fujimaki, T Anzai, R Yoshii, M Kojima, K Ikeda. Impact of Indocyanine Green Fluorescent Image-Guided Surgery for Parapharyngeal Space Tumors. *J Cranio-Maxillofacial Surgery* 2014;42:835-838.
25. M Fujimaki, Y Fukumura, K Mitani, A Kurisaki, J Yokoyama, et al. Histological subtypes and characteristic structures of HPV-associated oropharyngeal carcinoma; study with Japanese cases. *Diagnostic Pathology* 2013, **8**: 211 doi: 10.1186/1746-1596-8-211.
26. Yokoyama J, Ohba S, Fujimaki M, Kojima M,

- Suzuki M, Ikeda K. Significant improvement in superselective intra-arterial chemotherapy for advanced paranasal sinus cancer by using Indocyanine green fluorescence. *Eur Arch Otorhinolaryngol.*2013;271(10):2795-801
27. Yokoyama J, Ohba S, Fujimaki M, Ito S, Kojima M, Anzai T, Yoshii R, and Ikeda K. Minimally invasive procedure for reconstruction through grafting free fat placed in sternocleidomastoid muscle flap following total parotidectomy with parapharyngeal space dissection. *Head Neck Oncol.* 2013; 5(4):42.
28. Yokoyama J, Fujimaki M, Ohba S, et al. A feasibility study of NIR Fluorescent Image-Guided Surgery in head and neck cancer based on the assessment of Optimum Surgical Time as revealed through Dynamic Imaging. *OncoTargets and Therapy* 2013;6 :1-6
29. Ohba S, Yokoyama J, Fujimaki M, Ito S, Matsumoto F, Ikeda K. A Novel application of a polyglycolic acid sheet in treating oral and oropharyngeal cancer. *Head Neck Oncol.* 2013 ; 5(1):3.
5. 横山純吉、他. セミナー招請講演 癌治療における EPA 栄養剤による支持療法の現況 頭頸部癌学会 2014 年 6 月 12 日、東京
6. 横山純吉、他. 内頸動脈を栄養血管とする副鼻腔進行癌に対する内頸動脈動注療法の有効性の検討 頭頸部癌学会、2014 年 6 月 12 日東京都新宿
7. 横山純吉、他. 当科における喉頭気管分離術の検討 嚥下医学 2014 年 2 月 14 日東京
8. 横山純吉、他、中咽頭側壁悪性腫瘍の経口腔的切除術後の形態と機能の検討. 頭頸部外科学会 2014 年 1 月 29 日 香川県高松市
9. 横山純吉、他 Usefulness of Superselective Intra-arterial Chemotherapy including Internal Carotid Artery for Advanced Paranasal Sinus Carcinomas involving Skull base. ARSR (国際学会)2013 年 8 月 29 日 Tokyo
10. 横山純吉、他. 広範囲血管浸潤を伴う巨大な甲状腺癌低分化癌(疑)の縦隔進展例 甲状腺外科学会 2013 年 9 月 26 日 名古屋市
11. 横山純吉、他. 咬筋内神経鞘腫の 1 例 小児耳鼻咽喉科学会、2013 年 6 月 19 日前橋市
12. 横山純吉、他. 頭頸部癌における近赤外蛍光イメージングを用いた Navigation surgery の有用性の検討、頭頸部癌学会、2013 年 6 月 13 日東京都新宿
13. 横山純吉、他.副鼻腔進行癌に動注療法時の血流分布の確認に ICG(Indocyanine Green) 蛍光法の有用性の検討、日本耳鼻咽喉科学会 2013 年 5 月 17 日、札幌市

〔学会発表〕 (計 13 件)

1. 横山純吉、他.再発頭蓋底浸潤癌に動注療法の流れ分布の確認に ICG 蛍光内視鏡の有用性の検討. 頭頸部外科学会 2016 年 1 月 28 日 名古屋市
2. 横山純吉、他.中咽頭癌側壁進行癌に経口腔的切除と Set-back tongue flap による誤嚥防止の工夫、嚥下医学会、2015 年 2 月 6 日 福島市
3. 横山純吉. セミナー招請講演 喉頭癌の診断と治療の最近の動向 板橋区喉頭がん検診研修会 2014 年 7 月 31 日、東京都
4. 横山純吉. セミナー招請講演 頭頸部癌における低侵襲的頸部リンパ節制御法 第 29 回関西耳鼻咽喉科腫瘍セミナー 2014 年 9 月 13 日 大阪市

〔図書〕 (計 1 件)

J Yokoyama, S Ohba ICG Fluorescent Image-Guided Surgery in Head and Neck Cancer. ICG Fluorescence Imaging and Navigation Surgery. Springer, 2015. ISBN : 978-4-431-55527-8

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

6. 研究組織

(1)研究代表者

横山純吉 (Yokoyama Junkichi)

杏林大学医学部非常勤講師

研究者番号:60312584

(2)研究分担者

長谷川泰久 (Hasegawa Yasuhisa)

愛知県立がんセンター研究所その他

研究者番号: 10261207

(3)研究分担者

大峽慎一 (Ohba Shinichi)

順天堂大学医学部准教授

研究者番号: 20549274

(4) 研究分担者

池田勝久 (Ikeda Katuhisa)

順天堂大学医学部教授

研究者番号:70159614