

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 28 日現在

機関番号：82406

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26462627

研究課題名(和文) センチネルリンパ節を標的とした新たな頭頸部癌機能温存治療の開発

研究課題名(英文) The development of a novel minimally invasive strategy targeting sentinel lymph node for head and neck cancer.

研究代表者

荒木 幸仁 (Araki, Koji)

防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究・耳鼻咽喉科学・准教授)

研究者番号：70317220

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)：uPA活性依存的に抗腫瘍効果を発揮する腫瘍溶解性センダイウイルスBioKnifeのセンチネルリンパ節転移標的治療について舌扁平上皮癌頸部リンパ節マウスモデルにおいて検討した。主な研究成果は、原発巣に注入したベクターの頸部リンパ節へ移行、レポーター遺伝子発現の確認、BioKnifeが頸部リンパ節転移(LNM)に感染、LNMを抑制、LNM内でアポトーシスの誘導、が挙げられる。BioKnifeはセンチネル理論に従って頸部リンパ節に移行し、転移を抑制することが示された。本研究結果から、BioKnifeの臨床応用による新たな頭頸部癌低侵襲治療の礎となることが期待された。

研究成果の概要(英文)：The targeted treatment of sentinel lymph node metastasis by oncolytic Sendai virus BioKnife, which has an antitumor effect depending on uPA activity, was demonstrated in the cervical lymph node metastasis mouse model of tongue squamous cell carcinoma. The main results are as follows: (1) confirmation of vector transfer and reporter gene expression into the cervical lymph node by injecting into the primary tumor, (2) infection and suppression of cervical lymph node metastasis (LNM) by BioKnife, (3) induction of apoptosis within LNM. BioKnife was shown to migrate to the cervical lymph nodes according to sentinel theory and suppress metastasis. From the results of this study, it was expected that it will be the cornerstone of a new minimally invasive treatment of head and neck cancer by clinical application of BioKnife.

研究分野：耳鼻咽喉科頭頸部外科

キーワード：センチネルリンパ節 腫瘍溶解性ウイルス 頭頸部がん リンパ節転移 機能温存治療

1. 研究開始当初の背景

頭頸部扁平上皮癌は全世界で7番目に多い癌であり、近年の化学療法、放射線療法および手術療法の集学的治療による標準療法の進歩により局所制御率の向上が得られつつあるものの、いまだ5年生存率が50-60%と予後不良な疾患である。頭頸部癌の予後を左右する因子として、原発巣の進展度・深達度や頸部リンパ節転移の有無、癌の細胞学的・組織学的分化度、遠隔転移の有無など挙げられるが、その中でも頸部リンパ節転移 (lymph node metastasis; LNM) は頭頸部癌患者の重要な予後因子であり、頭頸部扁平上皮癌におけるLNMの制御は喫緊の課題である。

我々は、腫瘍溶解性センダイウイルスを原発巣に投与することにより、原発巣に対する治療効果に加え、腫瘍溶解性センダイウイルスがリンパ流に従って転移リンパ節に移行し、LNMを抑制する可能性を模索した。特に、原発巣からリンパ流が最初に流入するセンチネルリンパ節の転移を標的とした治療が実現できれば、LNMの抑制効果や予防効果だけでなく、導入化学療法や手術、(化学)放射線療法などとの併用によりLNM制御の相加・相乗効果が期待できる。また、原発巣に対する低侵襲手術と腫瘍溶解性センダイウイルス療法を組み合わせることで、治療の低侵襲化による患者のQOL向上のみならず、頭頸部癌の予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考え、研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、uPA活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルス (BioKnife) が頭頸部扁平上皮癌の原発巣に対して治療効果を発揮するだけでなく、理論上頸部リンパ節転移に対する治療効果も期待できるので、LNMを標的とした新規治療の開発を目的として、舌扁平上皮癌頸部リンパ節転移マウスモデルにおけるBioKnifeの頸部リンパ節への移行やLNM抑制効果に関して検討を行った。

3. 研究の方法

ヌードマウスモデルで高率に頸部リンパ節転移するヒト舌扁平上皮癌細胞株 (HSC-3-M3) を使用した。治療ウイルスとして、uPA活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルス BioKnife、およびコントロールウイルス (F蛋白遺伝子に変異を加えていないM蛋白遺伝子欠損センダイウイルス rSeV/dM) を用いた。いずれもレポーター遺伝子として Green fluorescent protein (GFP) 遺伝子をコードしている。

頸部リンパ節転移に対する BioKnife の治療効果を検討するため、in vitro と in vivo の実験に分けて行った。

in vitro の実験では、様々な扁平上皮癌細胞株の uPA 活性測定やヌードマウスモデルで高率に頸部リンパ節に転移するヒト舌癌細胞株 HSC-3-M3 に対するウイルスの殺細胞効

果および経時的観察を行った。

in vivo 実験では、舌癌頸部リンパ節転移マウスモデルを確立し、ウイルスの頸部リンパ節への移行およびLNMに対する抗腫瘍効果、またその抗腫瘍メカニズムについて検討した。

4. 研究成果

in vitro 実験において、uPA 活性は HSC-3-M3 が他の扁平上皮癌細胞株と比較し、一番高値であった。HSC-3-M3 に対する BioKnife の殺細胞効果は、コントロールウイルスと比較し有意に高く、力価依存的であった。経時的観察では、BioKnife の感染した腫瘍細胞が細胞膜融合を引き起こし、細胞死を誘導していた。

in vivo 実験において、舌癌頸部リンパ節転移マウスモデルで、BioKnife を原発巣に注入することにより頸部リンパ節へ移行し、頸部リンパ節転移を抑制することが示された。また、ウイルス感染した頸部リンパ節転移内でアポトーシスの誘導を検出した。

本研究により、BioKnife は原発巣に対する治療効果のみならず、LNM を標的とした治療も可能であることが示された。

早期の頭頸部癌患者に対しては、BioKnife 単独投与による原発巣の制御や LNM の予防、頸部リンパ節における微小転移の制御が期待できる。また、低侵襲手術により原発巣を切除した後に LNM の予防や治療のために切除部に BioKnife を投与することも有効だろう。

BioKnife による腫瘍溶解性ウイルス療法は、頭頸部癌治療の低侵襲化を実現し、患者のQOL向上のみならず、予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考えている。本研究は、臨床応用が容易な手法を用いており、ウイルスベクターの安全性も高いことから、BioKnife の臨床応用が期待され、新たな頭頸部癌低侵襲治療の礎となると考えている。

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 3 件)

Nobuaki Tanaka, Koji Araki, Daisuke Mizokami, Yoshihiro Miyagawa, Taku Yamashita, Masayuki Tomifuji, Yasuji Ueda, Makoto Inoue, Kazuyuki Matsushita, Fumio Nomura, Hiroaki Shimada, Akihiro Shiotani. Sendai virus-mediated gene transfer of the c-myc suppressor far-upstream element-binding protein-interacting repressor suppresses head and neck cancer. *Gene Therapy*. 2015;22:297-304.

田中 伸吾、富藤 雅之、荒木 幸仁、塩谷 彰浩. Head and Neck Tumor 頭頸部腫瘍 局所

進行喉頭・下咽頭癌における喉頭温存 局所
進行喉頭・下咽頭癌に対する経口的切除術の
位置付け．癌と化学療法．2017;44:569-574.

荒木 幸仁、富藤 雅之、塩谷 彰浩．【レーザ
ー治療の最前線-コツとピットフォール】《口
腔・咽頭領域》咽頭腫瘍に対するレーザ
ー治療．耳鼻咽喉科・頭頸部外科．
2017;89:802-809.

〔学会発表〕(計 14 件)

Koji Araki, Daisuke Mizokami, Masayuki
Tomifuji, et al. Feasibility of novel tracers
for sentinel node detection in head and
neck region. 18th WCBIP/WCBE World
Congress (招待講演)．2014 年.

Shigeru Kosuda, Koji Araki, Daisuke
Mizokami, et al. Triple fusion image of
ICG-radiocolloid sentinel node SPECT/CT
and fluorescence image in head and neck
region. SNMMI Annual Meeting. 2014 年.

Tsunoi Y, Sato S, Watanabe R, Araki K, et
al. Integrated system for photomechanical
drug delivery and photoacoustic imaging of
pharmacokinetics. SPIE BiOS. 2014 年.

荒木幸仁、溝上大輔、富藤 雅之、山下拓、
大貫和信、梅田泉、藤井博史、小須田茂、塩
谷彰浩．頭頸部癌センチネル生検における
99mTc-フチン酸-ICG hybrid 法の基礎検討．
第 16 回 SNNS 研究会学術集会(招待講演)．
2014 年．

荒木幸仁、富藤 雅之、山下拓、塩谷彰浩．
咽喉頭癌 N0 症例におけるセンチネルリンパ
節生検．第 66 回日本気管食道科学会(招待
講演)．2014 年．

荒木幸仁、田中雄也、溝上大輔、大貫和信、
梅田泉、富藤雅之、山下拓、小須田茂、藤井
博史、塩谷彰浩．【シンポジウム 1】「がんの
転移を診る 画像診断の最前線」頭頸部癌セ
ンチネル生検における RI/光デュアルモダリ
ティーイメージングの基礎検討．第 17 回
SNNS 研究会学術集会(招待講演)2015 年．

藤井博史、大貫和信、荒木幸仁、塩谷彰浩．
99mTc-phytate-ICG を用いた
multi-modality sentinel lymph node
imaging の試み．第 11 回小動物インビバイ
メージング研究会(招待講演)．2015 年．

溝上大輔、荒木幸仁、塩谷彰浩．【基礎シン
ポジウム】「喉を守る 喉頭・気管領域の研
究 up to date ~若手喉頭科医による最新の知
見」センダイウイルスベクターを用いた気管
狭窄の遺伝子治療．第 27 回日本喉頭科学会
(招待講演)．2015 年．

Koji Araki, Yuya Tanaka, Daisuke
Mizokami, Kazunobu Ohnuki, Arashi
Fujita, Izumi O. Umeda, Shigeru Kosuda,
Hirofumi Fujii, Akihiro Shiotani.
Feasibility animal study of triple fusion
image using indocyanine
green-technetium-99m-phytate colloid
technique with SPECT/CT and
fluorescence imaging system for sentinel
lymph node detection in head and neck
region. 9th International Conference on
Head and Neck Cancer (国際学会)．2016
年.

Yuya Tanaka, Koji Araki, Shingo Tanaka,
Yoshihiro Miyagawa, Hiroshi Suzuki,
Daisuke Kamide, Taku Yamashita,
Masayuki Tomifuji, Yasuji Ueda, Makoto
Inoue, Akihiro Shiotani. Feasibility of
Recombinant Sendai Virus Mediated
Sentinel Lymph Node Targeted Gene
Transfer in an Orthotopic Nude Mouse
Model of Head & Neck Squamous Cell
Carcinoma. 9th International Conference
on Head and Neck Cancer(国際学会)．2016
年.

Yuya Tanaka, Koji Araki, Shingo Tanaka,
Yasuji Ueda, Makoto Inoue, Akihiro
Shiotani. Immunoresponse by Oncolytic
Virus Suppresses Metastasis. American
Academy of Otolaryngology – Head and
Neck Surgery Annual meeting 2017 (国際
学会)．2017 年.

Shingo Tanaka, Koji Araki, Taku
Yamashita, Yuya Tanaka, Yasuji Ueda,
Akihiro Shiotani. Oncolytic Sendai Virus
Therapy for Head and Neck Cancer.
American Academy of Otolaryngology –
Head and Neck Surgery Annual meeting
2017 (国際学会)．2017 年.

Yuya Tanaka, Koji Araki, Shingo Tanaka,
Yoshihiro Miyagawa, Hiroshi Suzuki,
Daisuke Kamide, Masayuki Tomifuji,
Kosuke Uno, Eiko Harada, Taku
Yamashita, Yasuji Ueda, Makoto Inoue,
Akihiro Shiotani. Sentinel Lymph Node
Targeted Therapy by Oncolytic Sendai
Virus Suppresses Micrometastasis of Head
and Neck Squamous Cell Carcinoma in an
Orthotopic Nude Mouse Model. American
Association for Cancer Research Annual
Meeting 2018 (国際学会)．2018 年.

Yuya Tanaka, Koji Araki, Shingo Tanaka,
Yoshihiro Miyagawa, Hiroshi Suzuki,
Daisuke Kamide, Masayuki Tomifuji,

Kosuke Uno, Eiko Harada, Taku Yamashita, Yasuji Ueda, Makoto Inoue, Akihiro Shiotani. Migration of Oncolytic Sendai Virus into Sentinel Lymph Node and Suppression of Lymph Node Metastasis by its Metastasis-specific Infection in an Orthotopic Nude Mouse Model of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. International Sentinel Node Society Biennial Meeting (国際学会). 2018年.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：癌の治療組成物
発明者：塩谷彰浩、田中雄也、荒木幸仁、森豊隆、上田泰次
権利者：同左
種類：特許
番号：2017-135020
出願年月日：2017年
国内外の別：国内

取得状況(計 0 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

荒木 幸仁 (ARAKI, Koji)
防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設)
耳鼻咽喉科学・准教授
研究者番号：70317220

(2) 研究分担者

塩谷 彰浩 (SHIOTANI, Akihiro)
防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設)
耳鼻咽喉科学・教授
研究者番号：80215946

研究分担者

富藤 雅之 (TOMIFUJI, Masayuki)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設)

耳鼻咽喉科学・講師

研究者番号：80327626

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()