

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26463053

研究課題名(和文) 造影剤リゾビストを用いた温熱療法とセツキシマブ併用による口腔癌治療の開発

研究課題名(英文) Development of oral cancer treatment by hyperthermia generated with contrast agent Resovist and Cetuximab

研究代表者

小泉 敏之 (KOIZUMI, Toshiyuki)

横浜市立大学・附属病院・講師

研究者番号：80323575

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、口腔癌細胞において交流磁場下での造影剤リゾビストの温熱加温とセツキシマブを併用することによる、セツキシマブに対して抵抗性を示す口腔癌への新たな治療法の開発を目的とした。われわれは温熱加温を行ったヒト由来扁平上皮癌が加温を行っていない細胞に比べEGFRの発現量が高くなることを発見した。そこで、セツキシマブ抵抗性の扁平上皮癌細胞に対して温熱加温を行い、EGFRを高発現させることでセツキシマブに対する感受性を増感することができ、抗がん作用をより強く発揮できると推測し検討を行った。その結果、マウスモデルにおいてリゾビストを投与し磁場印加してセツキシマブを併用した群で腫瘍の縮小傾向を認めた。

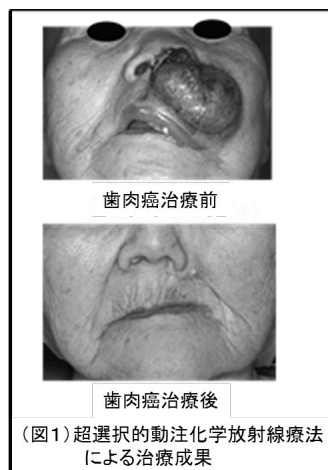
研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is the development of a new treatment for oral cancer indicating the resistance for the anticancer effect of cetuximab by using hyperthermia generated with contrast agent Resovist in an alternating magnetic field(AMF) and Cetuximab. We found that the expression of EGFR in human oral squamous cell carcinoma cells increased by thermal stimulation. Therefore, we thought that the sensitivity of Cetuximab-resistant human oral squamous cell carcinoma cells for cetuximab can be activated by thermal stimulation-induced high expression of EGFR. As a result of the study using mouse models based on this speculation, the anti-cancer effect were observed in the group treated with combination of cetuximab and hyperthermia generated with contrast agent Resovist in AMF.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔癌 ハイパーサーミア セツキシマブ

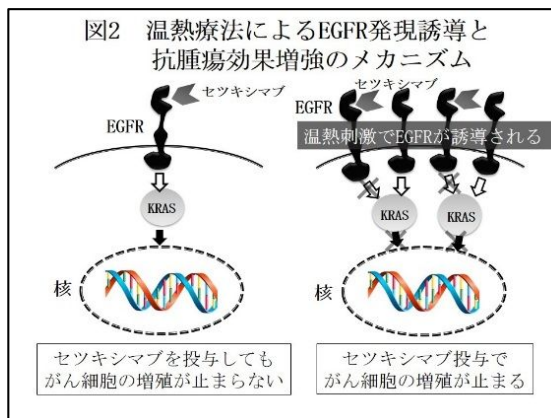
1. 研究開始当初の背景

進行口腔癌は手術療法が主体となるが、摂食・嚥下障害や構音障害、顔面変形による審美障害など術後の QOL 低下が大きな問題となる。申請者らは、進行口腔癌に対する超選択的動注化学放射線療法（図 1）を確立し（Tohnai I, et al, Oral Oncol, 1998）、これを治療の主体として原発部位の手術回避の可能性について長年検討している。従来、手術のみが選択肢であった症例に対しても超選択的動注化学放射線療法により原発部位の手術を回避し臓器機能を温存しており、さらに温熱療法（ハイパーサーミア）の併用で予後の改善に努めている（Mitsudo K, Koizumi T, et al, Int J



Radiat Oncol Biol Phys, 2012)。近年、細胞内シグナル伝達を制御する分子標的薬の研究・開発が進められ、一部では臨床応用されており、がん患者の生命予後の改善に重要な役割を担うものとして期待されている。最近、我が国においても頭頸部癌に対して、抗 EGFR（Epidermal Growth Factor Receptor：上皮成長因子受容体）モノクローナル抗体であるセツキシマブの適応が認可された。セツキシマブは、KRAS 遺伝子変異癌細胞では十分な治療効果が得られないことが証明されている。一方で、KRAS 遺伝子の変異がない症例でも治療効果が十分でない症例があるとされている。また、北川らは EGFR 発現量とセツキシマブの治療効果に相関性があることを示し（Shigeta K, et al, Plos one, 2013）、EGFR の発現量の高い癌細胞株は治療効果が高いとしている。われわれは進行口腔癌に対する治療戦略として超選択的動注化学療法と温熱療法の併用療法を行っており、さらに温熱療法の抗腫瘍効果について基礎的、臨床的研究を継続して行っている（Tohnai I et al, Oncology, 2001, Hamaguchi S, et al, Cancer Sci, 2003）。温熱療法は腫瘍を 42.5 以上に加温することで抗腫瘍効果を得る方法であり、1970 年代より臨床応用されている（Suite HD, et al, Cancer, 1974）。顎・口腔領域は解剖学的に複雑であり、従来の温熱療法では原発部位への応用は困難なため、現在のところわれわれは臨床においては頸部リンパ節転移に対して温熱療法を施行しており、口腔の原発腫瘍への温熱療法を可能とする方法の開発が急務と考えている。その候補として磁性体ナノ粒子（造影剤リゾビスト）を担体とした、交流

磁場下での発熱を利用した温熱療法を考えた。そこで、KRAS 遺伝子の変異がありセツキシマブによる十分な治療効果が見込めない扁平上皮癌細胞や KRAS 遺伝子の変異がなくとも温熱加温で EGFR の発現を誘導することで、セツキシマブの抗がん作用を増強させることが可能と考え（図 2）、さらに、温熱加温そのものが抗がん作用を持っており、セツキシマブとの併用により抗がん作用の相乗効果も期待できるものである。



2. 研究の目的

本研究は口腔癌の原発部位への応用を容易に可能とする造影剤リゾビストを用いた温熱療法を確立するとともに、温熱療法と分子標的薬セツキシマブを併用することで温熱刺激により EGFR の発現を誘導してセツキシマブの治療効果を高め、さらに温熱刺激での殺細胞効果を組み合わせた口腔癌に対する新たな治療法を目指すものである。

3. 研究の方法

・ヒト由来扁平上皮癌細胞を用いた造影剤リゾビストによるハイパーサーミアの検討

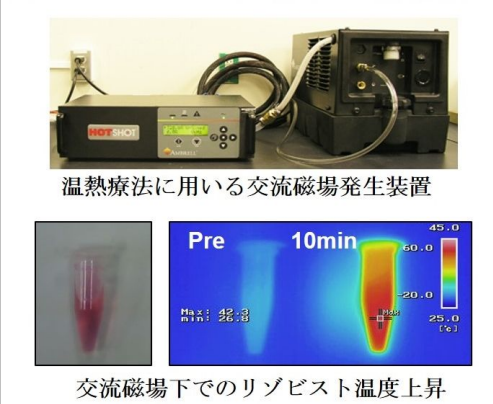
・ヒト由来扁平上皮癌細胞を用いたハイパーサーミアに伴う EGFR 発現誘導の検討。

・リゾビストを用いたハイパーサーミアとセツキシマブ併用による抗腫瘍効果の検討。セツキシマブに抵抗性を示すヒト由来扁平上皮癌細胞を移植したマウスモデルを作成する。リゾビストを腫瘍部に局所投与し交流磁場下で発熱させる。セツキシマブが標的とする EGFR 発現を誘導した後、セツキシマブ併用による抗腫瘍効果の増強を検討する。

4. 研究成果

・ヒト由来扁平上皮癌細胞を用いた造影剤リゾビストによるハイパーサーミアの検討。まずは、市販造影剤であるリゾビストの交流磁場下での発熱について検討を行った。交流磁場発生装置と温度を可視化した図を示す（図 3）。下段、右図において左は刺激前、右は交流磁場（308kHz、電流 270A）印加 10 分の状態を示す。交流磁場下でのリゾビスト

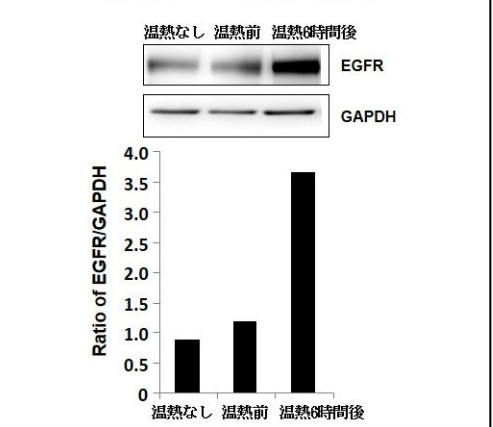
図3 リゾビストを用いた温熱療法



交流磁場下でのリゾビスト温度上昇の温度上昇が確認できる。このことから、リゾビストを使用したハイパーサーミアの可用性が示唆された。

温熱刺激によるEGFR発現誘導の検討。扁平上皮癌細胞を温熱刺激することでEGFRの発現が誘導されることをWestern blotting法を用いて検討した(図4)。

図4 温熱療法による扁平上皮癌細胞のEGFR発現誘導

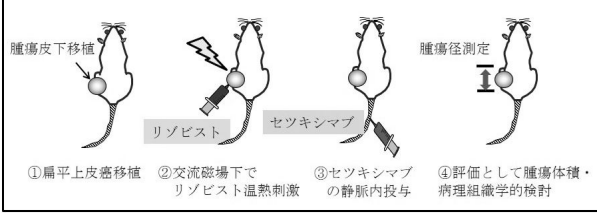


6時間の温熱刺激でEGFR発現が誘導されることが示された。このことから、温熱刺激でセツキシマブへの感受性を高められる可能性が示唆された。

リゾビストを用いたハイパーサーミアとセツキシマブ併用による抗腫瘍効果の検討。マウスモデルにて、リゾビストを腫瘍部に局所投与し、交流磁場下で発熱させた。これによりセツキシマブが標的とするEGFRの発現を誘導させた後、セツキシマブ併用による抗腫瘍効果の増強についての検討を行った(図5)。

治療群を以下の6グループに分けて検討した。コントロール群(リゾビスト・セツキシマブ投与なし) リゾビストを左大腿に局所投与のみ行った群 セツキシマブを静脈投与のみ行った群 リゾビスト投与後、交流磁場にて磁場印加を行った群 リゾビスト・セツキシマブの投与のみを行った群 リゾビス

図5 実験方法



トを投与し交流磁場にて磁場印加による温熱加温後、セツキシマブを静脈投与した群である。コントロールに比較し、磁場印加による温熱とセツキシマブ投与を併用した群で腫瘍の縮小傾向を認めた。しかし、検定上での優位性は示せず、今後も引き続きより有効な条件設定を含めた検討が必要であると考える。

結論：臨床で実際に使用されている造影剤リゾビストを使用したハイパーサーミアの可能性、温熱刺激でのEGFR発現誘導については今後の治療法開発への応用可能性を確認できた。しかし、動物モデルでの優位性については今後も検討が必要である。

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3件)

1. ハイパーサーミア 口腔がんに対する超選択的動注化学放射線療法とハイパーサーミアの併用療法、小泉敏之、光藤健司、藤内祝、日本歯科理工学会雑誌、(査読なし) Vol.37, No.2, 2018, pp86-89
2. Retrograde superselective intra-arterial chemoradiotherapy combined with hyperthermia and cetuximab for carcinoma of the buccal mucosa with N3 lymph node metastasis: a case report, Oral Radiology、(査読あり)、T Koizumi(2/12)、K Mitsudo(3/12)、M Kioi(8/12)、I Tohnai(12/12)、2018、<https://doi.org/10.1007/s11282-018-0319-y>
3. Treatment of oral cancer using magnetized paclitaxel, Oncotarget、(査読あり)、K Mitsudo(3/21)、M Kioi(9/21)、T Koizumi(10/21)、I Iwai(20/21)、Vol.9, No.21, 2018, pp 15591-15605、doi: 10.18632/oncotarget.24570

[学会発表](計4件)

1. T Koizumi、Thermochemoradiation therapy using superselective intra-arterial infusion for advanced oral cancer with cervical lymph node metastasis contacted with the mandible, The 7th Asian Congress of Hyperthermic

- Oncology、2018年5月25日、ソウル、大韓民国
2. 小泉敏之、進行口腔癌に対する超選択的動注化学放射線療法とハイパーサーミアの併用治療 下顎骨に接した頸部リンパ節転移に対する治療、日本ハイパーサーミア学会第34回大会、2017年9月16日、京都
 3. 小泉敏之、進行口腔癌に対する超選択的動注化学放射線療法とハイパーサーミアの併用治療 下顎骨浸潤した頸部リンパ節転移に対する治療、日本ハイパーサーミア学会第33回大会、2016年9月3日、筑波
 4. T Koizumi、A case report of thermobiochemoradiation therapy using superselective intra-arterial infusion for carcinoma of the buccal mucosa with N3 lymph node metastases、The 12th International congress of hyperthermic oncology、2016年4月12日、New Orleans、USA

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小泉 敏之 (KOIZUMI, Toshiyuki)
横浜市立大学・附属病院・講師
研究者番号: 8 0 3 2 3 5 7 5

(2) 研究分担者

來生 知 (KIOI, Mitomu)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号: 3 0 5 4 5 0 5 9

藤内 祝 (Tohnai, Iwai)
横浜市立大学・医学研究科・教授
研究者番号: 5 0 1 7 2 1 2 7

光藤 健司 (Mitsudo, Kenji)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号: 7 0 3 0 3 6 4 1