

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861965

研究課題名(和文) 口腔癌に対する超選択的動注分子標的治療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel targeted therapy using retrograde superselective IA-CCRT on oral cancer

研究代表者

光永 幸代 (Mitsunaga, Sachiyo)

横浜市立大学・医学(系)研究科(研究院)・客員研究員

研究者番号：20567606

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：現在進行口腔癌においては、拡大切除による術後の摂食・嚥下障害、構音障害など多くの機能障害が生じるため、著しいQOLの低下は避けられないのが現状である。そこで本研究では手術回避を可能とする超選択的動注化学放射線療法により副作用の少ない分子標的薬を組み合わせることで、高い抗腫瘍効果と安全性の高い新規治療法の開発を目指す。まずセツキシマブの標的因子であるEGF受容体の口腔癌における発現度を解析したところ、リン酸化の亢進を認めた。次に抗がん剤と分子標的薬の抗腫瘍効果を高めるため、最適な投与経路の解析を行ったところ、最も抗腫瘍効果の高い群はセツキシマブ全身投与と度せたキセル局所投与の組み合わせであった。

研究成果の概要(英文)：The problem of current cancer therapy for the treatment of patients with advanced oral cancer contains functional disorders such as dysphasia, mastication disorder, cosmetic problem after the surgery. To avoid this, we have proposed the novel therapeutic strategy using retrograde superselective intra-arterial chemoradiotherapy with targeted agents. We found the significant phosphorylation of EGFR in oral cancer cell lines. In mice, subcutaneous oral tumor was most effectively treated with intraperitoneally injected cetuximab and intratumoral injection of docetaxel.

研究分野：癌の分子標的治療

キーワード：分子標的薬

1. 研究開始当初の背景

現在、進行口腔癌の切除可能症例においては、拡大切除による術後の摂食・嚥下障害、構音障害など多くの機能障害が生じるため、著しい QOL の低下は避けられないのが現状である。よってこれからの口腔癌治療においては進展癌に対して手術回避が可能となる治療法の開発が強く求められる。超選択的動注化学放射線療法は原発巣の手術回避を可能とし口腔癌患者の QOL 向上に寄与してきた。さらに近年我々は後頭動脈よりの動注カテーテル挿入法を開発し、同時 2 ルートからの薬剤投与が可能となった。これは進展例において、1 ルートでは腫瘍を覆いきれない場合や、腫瘍周囲および微小浸潤部に対して高濃度の抗癌剤投与が可能となった。しかしその反面、シスプラチンなどの一般的な抗癌剤は正常細胞にも作用するため、副作用としての口内炎や骨髄抑制により入院期間は長期化し、治療期間中の QOL を低下させる場合もある。そこでより侵襲の少ない超選択的動注化学療法を実現するために、現在広く用いられている抗癌剤のかわりに、癌細胞に対してより選択性の高く正常細胞に為害性の低い分子標的治療薬応用の検討が必要と考えられる。

頭頸部癌における分子標的薬の臨床導入は他領域の悪性腫瘍に比べて非常に遅れていたが、2006 年にアメリカで上皮成長因子受容体(EGFR)を標的とするセツキシマブが承認され、日本でも 2012 年 12 月ようやく認可されたばかりで、その有用性が期待される分子標的薬である。一方我々は *in vitro* およびマウスを用いた *in vivo* 実験において interleukin(IL)-13 受容体が頭頸部癌で高発現していることを見出し、それをターゲットとするサイトトキシン(IL-13PE)を作製し、その抗腫瘍効果を数多く報告している。

2. 研究の目的

本研究は臨床標本を用いてこれら標的分子の発現度を解析し、そのデータをもとに本邦の口腔癌において最適な分子標的薬の選択と、免疫不全動物を用いてこれらの分子標的薬の超選択的動注経路からの抗腫瘍効果とその安全性、さらに薬剤分布を解析することで個々の癌の特性に則し、かつ抗腫瘍効果と安全性の高い新規の治療法の確立を目指すものである。

3. 研究の方法

受容体発現度の事前診断

セツキシマブやパニツムマブは EGFR に結合し、その活性化を阻害することでシグナル伝達を遮断し細胞はアポトーシスに陥る。一方、IL-13PE は IL-13 に緑膿菌の外毒素 PE38 を融合させた fusion 蛋白である。受容体に高感受性で結合したのち、細胞内へ取り込まれ、毒素によって細胞死へと誘導する。受容体を高発現している癌細胞への毒性は非常に高いのに対し、殆どの正常細胞では受容体は発現していないため毒性は見られない。

分子標的薬の効果および副作用には人種差があるため、日本人におけるデータ解析が必須である。そこで、まず生検にて確定診断を得た口腔癌患者標本を用いて、EGFR、IL-13R 発現率を免疫染色で解析する。さらに口腔癌細胞株での発現度を同様に解析する。

抗癌剤(殺細胞性)と分子標的薬の抗腫瘍効果

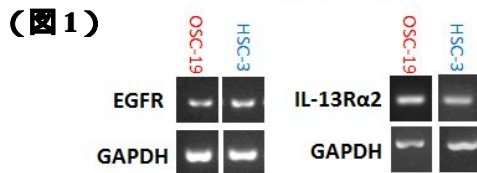
抗癌剤および分子標的薬の動注あるいは全身の投与経路による効果比較のため、TXT と分子標的薬を腹腔内あるいは腫瘍内投与し、それぞれ全身投与および局所投与単独、および併用時の抗腫瘍効果を舌癌細胞株 OSC-19, HSC-3 のヌードマウス皮下腫瘍モデルにて解析する。

4. 研究成果

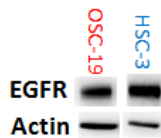
細胞株による EGFR, IL-13R の発現解析

口腔癌細胞株である OSC-19, HSC-3 を使用し RT-PCR により EGFR および IL-13R の発現解析を行った (図 1)。OSC-19, HSC-3 と

RT-PCR Expression of EGFR and IL-13Rα2 in OSCC Cells



Western Blot Expression of EGFR in OSCC Cells



も EGFR および IL-13R の発現が確認された。またタンパク質レベルでの EGFR の発現を Western Blot により解析したところ、口腔癌細胞株で EGFR の発現が確認された。

抗癌剤 (殺細胞性) と分子標的薬の抗腫瘍効果

抗癌剤として TXT を、分子標的薬は Cetuximab を用いて口腔癌皮下腫瘍マウスモデルにおける全身投与および局所投与の効果の違いを検討した。まず最初に単独投与

における抗腫瘍効果を検討した。その結果、投与後 1 週間においては cetuximab における投与経路による抗腫瘍効果に有意な差を認めなかった。TXT においては全身投与と比較し腫瘍内投与においてより有意な抗腫瘍効果を認めた。その結果より、全身および腫瘍内投与において同等の抗腫瘍効果が期待出来る濃度を以下のように決定し、併用時の投与経路の違いにおける抗腫瘍効果について検討を行った。

Cetuximab IP : 5.0mg/kg, Cetuximab IT : 5.0mg/kg, TXT IP : 10.0mg/kg

TXT IT : 5.0mg/kg

下記のように 5 群に分類し、Control (PBS)

Cetuximab (IT; 5.0mg/kg)+Cetuximab

(IP; 5.0mg/kg) TXT (IT; 5.0mg/kg)+TXT

(IP ; 10.0mg/kg) Cetuximab (IP;

5.0mg/kg)+TXT (IT; 5.0mg/kg)

Cetuximab (IT; 5.0mg/kg) +TXT (IP;

10.0mg/kg)

薬剤投与による抗腫瘍効果を体積変化により比較した。

その結果、最も抗腫瘍効果が高かった群は Cetuximab (IP)+TXT (IT) で、ほとんどの腫瘍が消失した。次いで Cetuximab (IP)+Cetuximab (IT)、Cetuximab (IT)+TXT

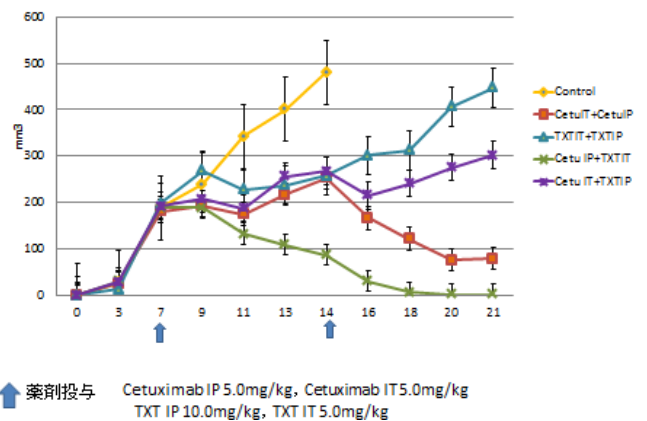


図 2. 腫瘍体積の変化と薬剤投与後 1 週目の免疫染色画像

(IP)、TXT (IP)+TXT (IT)の順であった(図2)

次にそれぞれの群に関して、治療開始後経時的で腫瘍組織採取を行い、免疫組織学解析により腫瘍内の微小環境変化を調べた。単球やマクロファージなどの骨髄系の細胞マーカーである CD11b と、血管内皮細胞マーカーである CD31 を用いて比較検討した。

その結果 CD11b+細胞の腫瘍への流入がTXT (IT)+TXT (IP)において最も顕著であったのに対して、血管内皮細胞数が最も多いことが確認された。それに対して cetuximab 投与群ではいずれも血管内皮細胞が減少していた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 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：
出願年月日：
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
光永 幸代(MITSUNAGA, Sachio)
横浜市立大学・医学研究科・客員研究員
研究者番号：20567606

(2)研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者
()

研究者番号：