

機関番号	研究種目番号	審査区分番号	細目番号	分割番号	整理番号
17102	13	-	8310		0004

平成28年度(2016年度)若手研究(B) 研究計画調書

平成27年11月 2日
2版

新規

研究種目	若手研究(B)						
分野	医歯薬学						
分科	外科系臨床医学						
細目	耳鼻咽喉科学						
細目表 キーワード	頭頸部外科学						
細目表以外の キーワード							
研究代表者 氏名	(フリガナ)	ヤマウチ モリヤス					
	(漢字等)	山内 盛泰					
年齢 (H28.4.1現在)	39 歳 (S . 51年11月生まれ)						
所属研究機関	九州大学						
部 局	医学研究院						
職	共同研究員						
学 位	医学博士						
現在の専門	頭頸部外科学					エフォート	35%
研究課題名	頭頸部癌に対する腫瘍溶解性ウィルス療法導入のための基礎的研究						
研究経費 〔千円未満の 端数は切り 捨てる〕	年度	研究経費 (千円)	使用内訳(千円)				
			設備備品費	消耗品費	旅費	人件費・謝金	その他
	平成28年度	1,500	0	1,000	400	0	100
	平成29年度	1,900	0	1,300	500	0	100
	平成30年度	1,600	0	1,000	500	0	100
	平成31年度	0	0	0	0	0	0
	総計	5,000	0	3,300	1,400	0	300
開示希望の有無	審査結果の開示を希望する						

研究目的

本欄には、研究の全体構想及びその中での本研究の具体的な目的について、冒頭にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、適宜文献を引用しつつ記述し、特に次の点については、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください（記述に当たっては、「科学研究費助成事業における審査及び評価に関する規程」（公募要領 7 5 頁参照）を参考にしてください。）。

研究の学術的背景（本研究に関連する国内・国外の研究動向及び位置づけ、応募者のこれまでの研究成果を踏まえ着想に至った経緯、これまでの研究成果を発展させる場合にはその内容等）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするのか

当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義

研究目的（概要） 当該研究計画の目的について、簡潔にまとめて記述してください。頭頸部癌に対する腫瘍溶解性ウイルス療法導入のための基礎的研究

本研究は頭頸部癌に対する新たな治療戦略として免疫療法を導入することを目指し、頭頸部癌細胞株を用いて腫瘍溶解性ウイルス治療の有効性を、in vitro および in vivo で検討し、将来の臨床応用につなげることを目的とする。

研究の背景

頭頸部癌に対する治療として現在、手術療法、放射線療法、化学療法を組み合わせた集学的治療が行われており、形成外科領域の進歩もあり局所制御は近年改善がみられているが、遠隔転移症例や手術不能症例といった進行癌や治療後の再発症例については有効な治療法は確立していない。根治が不能な病期にあっても頭頸部癌の場合は比較的長期間全身状態が保たれている場合もあるが、呼吸、摂食、嚥下、発声等の機能を維持するために何らかの治療が必要なケースも多く、根治性は無くとも侵襲の大きな手術が必要になったり、また気道管理や栄養管理のためだけに入院治療が長期化したり等、治療に難渋することが多々あり、新たな治療法の開発が待たれている。

がんに対する治療法として、免疫治療は根治が可能な治療方法として長年有望視されてきたが有効な治療法の開発には至っていなかった。しかし免疫学の進歩に伴いがんに対する免疫監視機構やがんによる免疫逃避機構に関する理解が進むにつれ、これまでの免疫治療が有効に働かなかった原因も徐々に明らかになってきている。近年、悪性黒色腫に対する抗 CTLA-4 抗体療法や抗 PD-1 抗体療法等の開発によって免疫治療は注目を集めており、その他様々な治療法の開発が進められている。今後さらにがん免疫を制御する治療が進歩することになれば、免疫療法ががん治療の大きな柱の一つとなることが期待できる。

腫瘍溶解性ウイルス療法は自己増殖能を持つウイルスをがん細胞に感染させ、周囲のがん細胞に自己感染していくことで直接的な殺細胞作用を発揮する治療法であるが、がんウイルス療法はかつて 1950-1960 年代にかけて様々なウイルス療法が試されたが、安全性の面などから新しい治療法として確立しなかった。しかし近年の遺伝子組み換え技術の発展に伴い、正常組織に対する病原性を排除しがん細胞特異的に増殖するウイルスを人工的に造ることが可能になってきた。がんウイルス療法の特徴として、ウイルスが感染したがん細胞の中で増殖することで周囲の感染していないがん細胞にも感染して広がることが可能であり、全てのがん細胞にウイルスを導入する必要が無い点がある。

さらに腫瘍溶解性ウイルス療法は、ウイルス感染による直接の殺腫瘍作用だけでなく、それに伴う二次的な宿主の特異的抗腫瘍免疫を誘導することが可能であり、これによって感染していない周囲のがん細胞、さらには遠隔転移腫瘍に対しても効果を発揮することが可能であり、免疫療法としての側面も持っているのが特徴である。今後、免疫療法の進歩に伴い抗腫瘍免疫をコントロールすることが可能になっていけば、腫瘍溶解性ウイルス療法の効果のさらなる増強も期待できる。

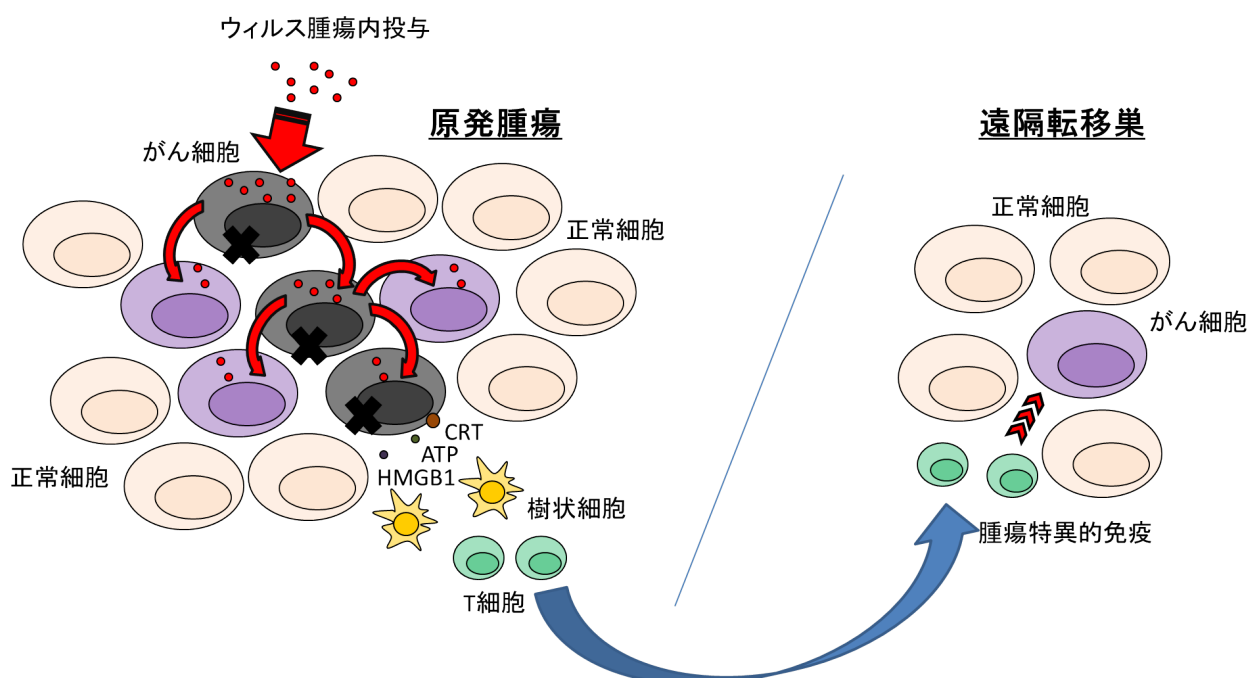
研究目的(つづき)

頭頸部癌は腫瘍を直視下に置くことが可能であり腫瘍溶解性ウィルスを腫瘍内に導入することが容易に行える。また患者に対する侵襲無く継続的な変化を観察することも可能で、腫瘍溶解性ウィルス療法の良い適応と考えられる。また有効な化学療法が確立しておらず、手術療法、放射線療法以外に有効な治療法が無い現状からしても、将来、腫瘍溶解性ウィルス療法のいい適応となる領域と考えられる。

本研究では、九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学分野と共同して、同研究室が開発した遺伝子改変麻疹ウィルスやエンテロウィルスといった腫瘍溶解性ウィルスを用いて、様々な頭頸部癌細胞株に対する抗腫瘍効果、またそれに伴い引き起こされる宿主の免疫反応について検討を行う。また実際のヒト頭頸部癌標本を用いて、腫瘍溶解性ウィルスが感染するために必要な表面分子の発現を確認し、初代培養細胞株に対する治療効果についても検討する。

Meng, X., et al. (2010). Enhanced antitumor effects of an engineered measles virus Edmonston strain expressing the wild-type N, P, L genes on human renal cell carcinoma. Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy 18, 544-551.

Miyamoto, S., Inoue, H., et al. (2012). Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimulatory properties that is active against lung adenocarcinoma. Cancer research 72, 2609-2621.



研究計画・方法

本欄には、研究目的を達成するための具体的な研究計画・方法について、冒頭にその概要を簡潔にまとめて記述した上で、平成28年度の計画と平成29年度以降の計画に分けて、適宜文献を引用しつつ記述してください。ここでは、研究が当初計画どおりに進まない時の対応など、多方面からの検討状況について述べるとともに、次の点についても、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください。

本研究を遂行する上での具体的な工夫（効果的に研究を進める上でのアイデア、効率的に研究を進めるための研究協力者からの支援等）

研究計画を遂行するための研究体制について、研究代表者及び研究協力者（海外共同研究者、科研費への応募資格を有しない企業の研究者、その他技術者や知財専門家等の研究支援を行う者、大学院生等（氏名、員数を記入することも可））の具体的な役割（図表を用いる等）

研究代表者が、本研究とは別に職務として行う研究のために雇用されている者である場合、または職務ではないが別に行う研究がある場合には、その研究内容と本研究との関連性及び相違点

なお、研究期間の途中で異動や退職等により研究環境が大きく変わる場合は、研究実施場所の確保や研究実施方法等についても記述してください。

研究計画・方法（概要） 研究目的を達成するための研究計画・方法について、簡潔にまとめて記述してください。

計画している研究項目は以下のものである。

種々の頭頸部細胞株に対する腫瘍溶解性ウィルスの効果を検討するために、in vitro で癌細胞表面のウィルス受容体の発現の確認、ウィルス感染による細胞の生存率、アポトーシス誘導等について検討を行う。

上記 で有効であった細胞株について、マウスを用いて腫瘍移植実験を行い、腫瘍サイズ変化、マウス生存率等、in vivo での腫瘍溶解性ウィルスの効果を検討する

腫瘍溶解性ウィルス治療が直接の殺腫瘍作用だけでなく、免疫刺激作用によっても抗腫瘍効果を発揮しているかどうかについての検討を行うため、in vitro および腫瘍移植マウスを用いて免疫学的検討を行う

ヒト頭頸部癌切除標本を用いて腫瘍溶解性ウィルス受容体の発現を確認する。また初代培養細胞株を樹立し、腫瘍溶解性ウィルスの効果を検討する。

研究代表者は 2003-2007 年まで九州大学生体防御医学研究所の免疫制御学(吉村昭彦教授)にて大学院生として、2013-2015 年までカナダ、トロント、Princess Margaret Cancer Centre(Dr. Tak War Mak Lab)で博士研究員として研究を行っており、細胞培養、遺伝子導入、細胞内シグナル伝達解析、ELSA、RT-PCR、FACS、細胞増殖活性測定、腫瘍移植実験等の方法について修得しており、我々の研究室ではこれらに必要な器具は所有しているため以下の実験を行うことは可能である。

腫瘍溶解性ウィルスについては九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学分野と共同で、すでに作成済みの遺伝子改変麻疹ウィルス、コクサッキーB3 ウィルスを使用する。

研究計画・方法(つづき)**平成 28 年度**

- a) 種々の頭頸部癌細胞株について、ウイルス感染に必要な受容体が細胞表面に発現しているかを FACS を用いて確認する。麻疹ウイルスについては CD46、コクサッキーB3 ウイルスについては CAR (coxsackievirus and adenovirus receptor)、DAF (decay-accelerating factor) の発現を確認する。
- b) a) で受容体の発現の確認できた頭頸部癌細胞株に対して各腫瘍溶解性ウイルスを感染させ、細胞の生存率や細胞周期の変化を調べ細胞障害能を検討する。
- c) b) で有効であった組み合わせについて、がん細胞内に引き起こされたアポトーシス関連等のシグナル伝達について検討する。

平成 29 年度

- d) a-c) で腫瘍溶解性ウイルスが細胞死を誘導していると考えられた細胞株、ウイルスの組み合わせについて、マウスを用いて腫瘍移植実験を行う。がん細胞株をマウスの皮下に移植し、腫瘍が触知可能なサイズまで増大したのちに腫瘍溶解性ウイルスを腫瘍内投与する。投与後の腫瘍サイズの継時的変化と、マウスの生存率を測定する。
- e) 腫瘍移植マウスに腫瘍溶解性ウイルスを投与することで、抗腫瘍免疫が誘導されるかどうかを検討する。まず *in vitro* でがん細胞株にウイルスを感染させて immunogenic cell death が誘導されているかを検討するために、calreticulin や ATP、HMGB1 の産生を検討する。*in vivo* では腫瘍移植マウスにウイルスを腫瘍内投与し、腫瘍内に存在する NK 細胞やマクロファージ、樹状細胞、好中球といった免疫細胞の数の変化や CTL 活性を FACS を用いて検討する。

平成 30 年度

- f) b-d) で有効であったと考えられたウイルスについて、実際にヒトの頭頸部癌組織標本において、ウイルス感染に必要な受容体が発現しているかを免疫組織学的検査にて検討する。
- g) ヒト頭頸部癌組織から初代培養を行い、腫瘍溶解性ウイルスを感染させて細胞の生存率や細胞周期の変化を調べ細胞障害能を検討する。またがん細胞内に引き起こされたアポトーシス関連等のシグナル伝達について検討する。

研究業績

本欄には、これまでに発表した論文、著書、産業財産権、招待講演のうち、本研究に関連するものを選定し、現在から順に発表年次を過去にさかのぼり、発表年（暦年）毎に線を引いて区別（線は移動可）し、通し番号を付して記入してください。なお、学術誌へ投稿中の論文を記入する場合は、掲載が決定しているものに限りします。

なお、研究業績については、主に 2011 年以降の業績を中心に記入してください。それ以前の業績であっても本研究に深く関わるものや今までに発表した主要な論文等（10 件以内）を記入しても構いません。

例えば発表論文の場合、論文名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。

以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。著者名が多数にわたる場合は、主な著者を数名記入し以下を省略（省略する場合、その員数と、掲載されている順番を 番目と記入）しても可。なお、研究代表者には下線を付してください。

2015 以降

2014

1. Yasumatsu, R., Nakashima, T., Yamauchi, M., Toh, S., and Komune, S. (2015). Extrapulmonary small cell carcinoma in head and neck. The Journal of laryngology and otology 129 Suppl 2, S83-85.

2. Nakashima, T., Yasumatsu, R., Yamauchi, M., Toh, S., Nakano, T., Yamamoto, H., and Komune, S. (2015). Hyalinizing clear cell carcinoma of the nasopharynx operated by trans-oral and trans-palatal approach. The Journal of laryngology and otology 129 Suppl 2, S95-97.

2013

3. Yamauchi, M., Nakano, T., Nakashima, T., Yasumatsu, R., Hashimoto, K., Toh, S., Shiratsuchi, H., Oda, Y., and Komune, S. (2013). Interferon Inducible IFI16 Expression in p16 Positive Squamous Cell Carcinoma of the Oropharynx. ISRN otolaryngology (査読有) 2013, 263271.

研究業績 (つづき)

2012

2011

4. Yasumatsu R, Nakashima T, Yamauchi M, Wakasaki T, Masuda M, Komune S. 2011. Thymidylate synthase expression as a predictor of clinical response to 5-fluorouracil-based chemoradiotherapy in patients with maxillary sinus squamous cell carcinoma. *Auris Nasus Larynx*. (査読有) 2011 Jun;38(3):387-91.

2010 以前

5. Yamauchi, M., M. Hashimoto, K. Ichiyama, R. Yoshida, T. Hanada, T. Muta, S. Komune, T. Kobayashi, and A. Yoshimura. 2007. Ifi202, an IFN-inducible candidate gene for lupus susceptibility in NZB/W F1 mice, is a positive regulator for NF-kappaB activation in dendritic cells. *Int Immunol* (査読有) 19:935-42.

6. Aki, D., R. Mashima, K. Saeki, Y. Minoda, M. Yamauchi, and A. Yoshimura. 2005. Modulation of TLR signalling by the C-terminal Src kinase (Csk) in macrophages. *Genes Cells* (査読有) 10:357-68.

7. Hanada, T., K. Tanaka, Y. Matsumura, M. Yamauchi, H. Nishinakamura, H. Aburatani, R. Mashima, M. Kubo, T. Kobayashi, and A. Yoshimura. 2005. Induction of hyper Th1 cell-type immune responses by dendritic cells lacking the suppressor of cytokine signaling-1 gene. *J Immunol* (査読有) 174:4325-32.

研究計画と研究進捗評価を受けた研究課題の関連性

- ・本欄には、本応募の研究代表者が、平成２６年度又は平成２７年度に、「特別推進研究」、「基盤研究（Ｓ）」又は「若手研究（Ｓ）」の研究代表者として、研究進捗評価を受けた場合に記述してください。
- ・本欄には、研究計画と研究進捗評価を受けた研究課題の関連性（どのような関係にあるのか、研究進捗評価を受けた研究を具体的にどのように発展させるのか等）について記述してください。

今回の研究計画を実施するに当たっての準備状況及び研究成果を社会・国民に発信する方法

本欄には、次の点について、焦点を絞り、具体的かつ明確に記述してください。

本研究を実施するために使用する研究施設・設備・研究資料等、現在の研究環境の状況

研究協力者がいる場合には、必要に応じその者との連絡調整の状況など、研究着手に向けての状況

本研究の研究成果を社会・国民に発信する方法等

当施設では細胞培養、ウィルス培養、マウス飼育、免疫染色、PCR、ウェスタンブロッティング、FACS を行う装置は稼働中であり、必要な抗体、試薬を購入すれば即実験可能である。

腫瘍溶解性ウィルスについては九州大学生体防御医学研究所ゲノム病態学分野と共同研究を行い、必要な試料、施設について提供を受ける旨、合意済みである。

研究成果は所属している頭頸部癌関連学会をはじめとする各学会および論文投稿によって発表し、機会があれば各種講演会でも発表を行う予定である。

研究略歴

本欄には、最終学校卒業後の研究履歴を現在から順に年度をさかのぼって記入してください。その際、どのような研究を行ってきたのか、研究内容とともに特筆すべき事項（受賞歴等）を簡潔に記入してください。

平成 25 年 4 月 - 平成 27 年 3 月

Princess Margaret Cancer Centre (Toronto, Canada), Dr. Tak Mak 研究室にて Postdoctoral fellow として、癌細胞の遠隔転移に関与する細胞表面分子に対する特異的治療薬開発のためのスクリーニング、および CD8T 細胞の抗腫瘍活性を増強するための分子標的治療薬開発のためのスクリーニングの研究に従事。

平成 23 年 4 月 - 平成 25 年 3 月

九州大学病院耳鼻咽喉・頭頸部外科にて頭頸部癌(中咽頭癌)の HPV 感染に伴う p16 分子の発現と治療予後に関する研究に従事。

平成 21 年 6 月 - 平成 23 年 3 月

浜の町病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科および九州大学共同研究員として、頭頸部扁平上皮癌細胞における TLR 刺激に対する免疫反応に関する研究、および真珠腫性中耳炎における骨破壊のメカニズムの解明に関する研究に従事

平成 19 年 4 月 - 平成 20 年 3 月

九州がんセンター頭頸科にて頭頸部癌に対する化学療法の効果に関する研究に従事

平成 15 年 4 月 - 平成 19 年 3 月

九州大学生体防御医学研究所免疫制御学において大学院生としてマクロファージや樹状細胞で免疫増強作用をひきおこす細胞内メカニズムに関する研究に従事
九州大学医学博士(医博甲第二一七六号)

平成 13 年 5 月 - 平成 14 年 5 月

九州大学医学部付属病院耳鼻咽喉科にて頭頸部神経原性腫瘍の病理組織像に関する研究に従事

平成 13 年 3 月

九州大学医学部医学科卒業

人権の保護及び法令等の遵守への対応（公募要領4頁参照）

本欄には、研究計画を遂行するに当たって、相手方の同意・協力を必要とする研究、個人情報の取り扱いの配慮を必要とする研究、生命倫理・安全対策に対する取組を必要とする研究など法令等に基づく手続が必要な研究が含まれている場合に、どのような対策と措置を講じるのか記述してください。

例えば、個人情報を伴うアンケート調査・インタビュー調査、提供を受けた試料の使用、ヒト遺伝子解析研究、組換えDNA実験、動物実験など、研究機関内外の倫理委員会等における承認手続が必要となる調査・研究・実験などが対象となります。

なお、該当しない場合には、その旨記述してください。

組み換え DNA 実験、動物実験に関しては、九州大学の定める規定に基づいて行う。

研究経費の妥当性・必要性

本欄には、「研究計画・方法」欄で述べた研究規模、研究体制等を踏まえ、次頁以降に記入する研究経費の妥当性・必要性・積算根拠について記述してください。また、研究計画のいずれかの年度において、各費目（設備備品費、旅費、人件費・謝金）が全体の研究経費の90%を超える場合及びその他の費目で、特に大きな割合を占める経費がある場合には、当該経費の必要性（内訳等）を記述してください。

本研究遂行のためには細胞培養、ウィルス培養、マウス購入、マウス維持・管理、および ELISA、定量的 RT-PCR、ウェスタンブロッティング、FACS、免疫組織学染色等の実験を行う必要がある。そのため試薬購入のための経費が必要である。

若手（Ｂ） - １０
（金額単位：千円）

設備備品費の明細			消耗品費の明細	
記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。			記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。	
年度	品名・仕様 （数量×単価）（設置機関）	金 額	品 名	金 額
28			実験試薬 （細胞培養、ウィルス調整、 FACS、ウェスタンブロッテ ィング、qRT-PCR、免疫染色）	1000
			28 年度合計	1000
29			実験試薬(同上)	1000
			マウス関連	300
			29 年度合計	1300
30			実験試薬(同上)	1000
			30 年度合計	1000

若手（Ｂ） - １１

（金額単位：千円）

旅費等の明細								
記入に当たっては、若手研究（Ｂ）研究計画調書作成・記入要領を参照してください。								
年度	国内旅費		外国旅費		人件費・謝金		そ の 他	
	事 項	金額	事 項	金額	事 項	金額	事 項	金額
2 8	調査、研究旅費	100	調査、研究旅費	300			会議費	100
	研究打ち合わせ旅費		研究打ち合わせ旅費				印刷費	
	成果発表		成果発表				研究結果投稿料	
	28 年度合計	100	28 年度合計	300			28 年度合計	100
2 9	調査、研究旅費	200	調査、研究旅費	300			会議費	100
	研究打ち合わせ旅費		研究打ち合わせ旅費				印刷費	
	成果発表		成果発表				研究結果投稿料	
	29 年度合計	200	29 年度合計	300			29 年度合計	100
3 0	調査、研究旅費	200	調査、研究旅費	300			会議費	100
	研究打ち合わせ旅費		研究打ち合わせ旅費				印刷費	
	成果発表		成果発表				研究結果投稿料	
	30 年度合計	200	30 年度合計	300			30 年度合計	100

研究費の応募・受入等の状況・エフォート

本欄は、第２段審査（合議審査）において、「研究資金の不合理な重複や過度の集中にならず、研究課題が十分に遂行し得るかどうか」を判断する際に参照するところですので、本人が受け入れ自ら使用する研究費を正しく記載していただく必要があります。本応募課題の研究代表者の応募時点における、（１）応募中の研究費、（２）受入予定の研究費、（３）その他の活動について、次の点に留意し記入してください。なお、複数の研究費を記入する場合は、線を引いて区別して記入してください。具体的な記載方法等については、研究計画調書作成・記入要領を確認してください。

「エフォート」欄には、年間の全仕事時間を100%とした場合、そのうち当該研究の実施等に必要となる時間の配分率(%)を記入してください。

「応募中の研究費」欄の先頭には、本応募研究課題を記入してください。

科研費の「新学術領域研究（研究領域提案型）」にあっては、「計画研究」、「公募研究」の別を記入してください。

所属研究機関内で競争的に配分される研究費についても記入してください。

(1) 応募中の研究費

資金制度・研究費名（研究期間・配分機関等名）	研究課題名（研究代表者氏名）	役 割 （代表・分担の別）	平成 28 年度 の研究経費 （期間全体の額） （千円）	エ フ ォ ー ト（％）	研究内容の相違点及び他の研究費に加えて本応募研究課題に応募する理由 （科研費の研究代表者の場合は、研究期間全体の受入額を記入すること）
【本応募研究課題】 若手研究（ B ） （ H28 ～ H30 ）	頭頸部癌に対する腫瘍溶解性ウィルス療法導入のための基礎的研究 （山内盛泰）	代表	1500 （ 5000）	35	（ 総 額 千 円 ）

