

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07108

研究課題名(和文) PD-1/PD-L1抗体により微小環境を標的とする難治性口腔がん治療の開発

研究課題名(英文) Development of anti-PD-1/PD-L1 therapy targeting tumor microenvironment for oral cancer

研究代表者

大久保 牧子 (OKUBO, Makiko)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：10780611

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：放射線治療は口腔癌の標準治療の一つであるが、局所再発により予後が低下する。そのため、放射線治療後に腫瘍が再発する機序を理解することが重要である。本研究では、マウスモデルとOSCC患者の組織標本を用いて、放射線照射により生じる腫瘍微小環境変化を検討した。放射線照射により腫瘍内は低酸素になり、CD11b陽性骨髄由来細胞の流入を認め、それらがCD11b+/F4/80+ マクロファージやCD11b+/Gr-1+ 骨髄由来抑制細胞へ分化していた。PD-1/PD-L1に関しては再発腫瘍で陽性細胞の増加を認めた検体もあったが、一定の傾向は認めなかった。小さな細胞集団であるため更なる解析が必要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Despite the fact that radiation is one of the standard therapies in patients with oral cancer, tumor can recur even in the early stages of the disease, negatively affecting outcomes and quality of life. Understanding the mechanism of such recurrence is therefore important. In this study, we investigated the tumor microenvironmental changes after radiation using a xenograft mouse model and human OSCC clinical specimens. Local irradiation caused tumor hypoxia and increased infiltration of CD11b+ myeloid cells. They were polarized into CD11b+/F4/80+ macrophages and CD11b+/Gr-1+ myeloid-derived suppressor cells. A few samples showed higher levels of PD-1 and PD-L1 expression in the recurrent tumors than in the untreated primary tumors, but there was no significance. They were small population so that further research will be needed.

研究分野：外科系歯学

キーワード：再発口腔癌 放射線照射 骨髄由来細胞 PD-1 PD-L1

1・研究開始当初の背景

口腔癌において、放射線治療は機能性、審美性の温存の点で有用な治療法の一つである。しかしながら、治療技術の進歩にも関わらず臨床の現場では局所再発を生じることがある。放射線治療後の再発は予後を著しく低下させることから、その制御は克服すべき課題の一つである。

申請者らは以前に脳腫瘍において、放射線照射により CD11b 陽性骨髄由来細胞 (CD11b⁺骨髄細胞) が腫瘍内へ流入し再発に寄与することを報告した (Kioi et al, 2010)。またさまざまながん種において、腫瘍内に骨髄系細胞群であるマクロファージや Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) が浸潤し血管新生や腫瘍免疫抑制を介して腫瘍の悪性化や難治性に寄与していることが報告され、がん微小環境を構成するこれらの非腫瘍細胞は新たな治療の標的として注目されている (Jain et al, 2008)。

一方で、近年免疫チェックポイント阻害薬の抗 PD-1/PD-L1 抗体薬が注目され、2017年3月には再発転移または遠隔転移を有する頭頸部癌における PD-1 抗体薬ニボルマブの使用が国内承認された。PD-1/PD-L1 は主に T 細胞/腫瘍細胞上で発現し、抗腫瘍免疫抑制を解除し効果的な免疫応答を誘導するものであるが、一部の報告で単球やマクロファージ、MDSC などの骨髄由来細胞上での発現が示唆されている (Norman et al, 2014)。

2・研究の目的

本研究では、放射線照射後の口腔癌における微小環境変化と骨髄由来細胞の関与を検証し、それらの細胞群における PD-1/PD-L1 の発現を検討した。そして放射線照射後の微小環境変化を標的とする抗 PD-1/PD-L1 抗体薬を用いた新たな治療法の確立を目的とした。

3・研究の方法

初めに、OSC-19 細胞 (ヒト舌扁平上皮癌細胞株) を Balb/c nude マウスの背部皮下に移植した。腫瘍が 200mm³ 程度に増殖した時点で局所放射線照射後 12Gy を施行し照射後再発マウスモデルを作製した。このモデルを用いて、放射線照射により生じる腫瘍微小環境化について免疫染色で検討した。さらに口腔扁平上皮癌患者の臨床検体を用いて、同一患者の原発腫瘍と放射線治療後の再発腫瘍における骨髄細胞、PD-1、PD-L1 の発現に関して免疫染色で検討した。

4・研究成果

OSC-19 皮下移植マウスに 12Gy の局所放射線照射を施行すると、図 1 のような増殖曲線を描き腫瘍の再発を認めた。また、放射線照射後の腫瘍微小環境変化を経時的に検証した結果、放射線照射による腫瘍内血管の減少と低酸素領域の拡大、CD11b⁺骨髄細胞の誘導を認めた。さらに誘導された CD11b⁺骨髄細胞に系統的解析を加えたところ、CD11b⁺F4/80⁺マクロファージと CD11b⁺Gr-1⁺ MDSC が大半を占めていた (図 2 a, b)。

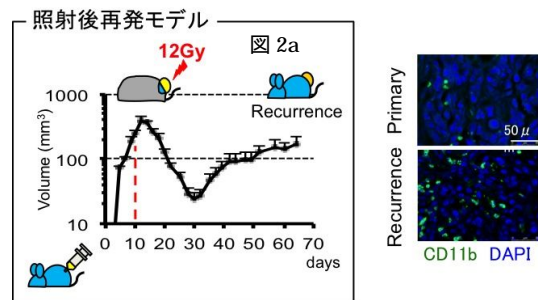


図 1

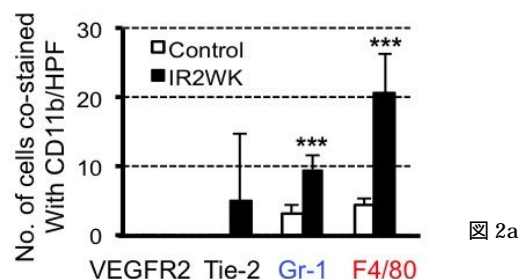


図 2a

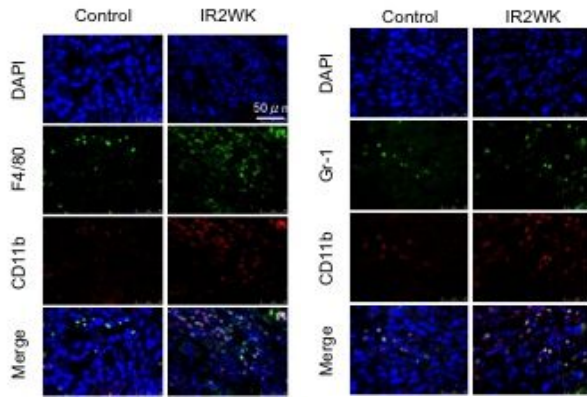


図 2b

続いて、口腔扁平上皮癌患者の放射線治療前後の病理検体を用いて免疫染色を行ったところ、マウスモデルと同様に放射線治療後の再発腫瘍において CD11b+骨髄細胞の有意な増加を認めた。PD-L1 に関しては、一部の原発、再発腫瘍において染色を認めたものの、再発で増加するなどの一定の傾向はみられなかった。PD-1 に関しては、PD-L1 と比較して良好な染色を認めたが、小さな細胞集団であるため更なる解析が必要と考えられた。(図 3)。

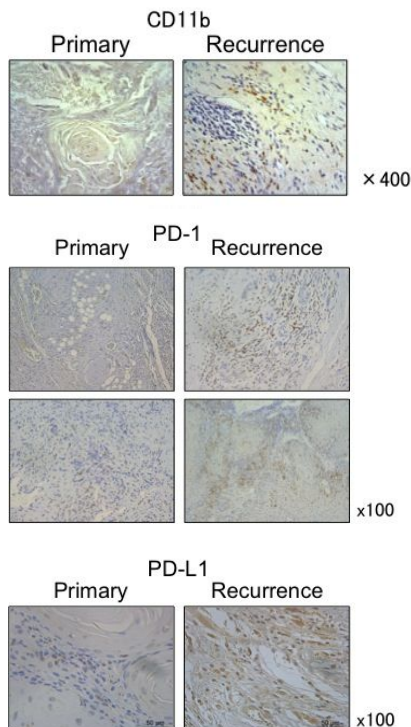


図 3

本研究により、口腔癌において放射線照射により腫瘍内に CD11b+骨髄細胞が誘導され、それらがマクロファージや MDSC に分化していることが示された。また PD-1, PD-L1 に関しては、治療により発現率が変化する可能性が示唆された。低酸素誘導因子 HIF-1 によりマクロファージや MDSC 上の PD-L1 の発現が上昇することや (Norman et al, 2014), 炎症性サイトカインにより単球上の PD-1 の発現が上昇することが報告されているが、放射線照射後の腫瘍内は低酸素環境にあり、かつ炎症性サイトカインが多く産生されているため、抗 PD-1/PD-L1 抗体薬によるマクロファージや MDSC の効果的な阻害が期待される。また口腔扁平上皮癌における PD-1/PD-L1 の発現率は 46~87 %と報告されており (Straub et al, 2016), 本来の抗腫瘍免疫抑制による抗腫瘍効果との相乗効果も期待される。放射線療法に付随して抗 PD-1/PD-L1 抗体療法を行うことで腫瘍の再発制御が可能になれば、手術などの外科治療の回避が期待されるため、機能的、審美的要因から温存が望まれる口腔癌治療において飛躍的な発展を望むことができる。

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 1 件)

Okubo M, Kioi M*, Nakashima H, Sugiura K, Mitsudo K, Aoki I, Taniguchi H and Tohnai I. M2-polarized macrophages contribute to neovasculogenesis, leading to relapse of oral cancer following radiation, *Sci Rep*, 6:27548. doi:10.1038/srep27548, 2016. 査読あり

〔学会発表〕(計 4 件)

大久保牧子, 来生 知, 中島英行, 杉浦 圭,

飯坂友宏，光藤健司，藤内 祝。口腔癌再発を導く骨髄 CD11b+単球細胞の分化機構とその役割。第 61 回日本口腔外科学会総会・学術大会，千葉，2016，11。

大久保牧子，來生 知，杉浦 圭，飯坂友宏，吉井 遥。光藤健司，藤内 祝：口腔癌の放射線治療後の再発に関わる骨髄 CD11b+細胞の役割とメカニズムの解明。第 35 回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会，福岡，2017，1。

大久保牧子，來生 知，杉浦 圭，飯坂友宏，吉井 遥。光藤健司，藤内 祝：放射線療法後の微小環境ニッチにおける骨髄細胞の役割 第 71 回日本口腔科学会学術集会，愛媛，2017，4。

大久保牧子，來生 知，杉浦 圭，飯坂友宏，吉井 遥。光藤健司，藤内 祝：口腔癌再発に関わる骨髄 CD11b 陽性単球細胞とバイオマーカーとしての検討。第 41 回日本頭頸部癌学会，京都，2017，6。

〔図書〕該当なし

〔産業財産権〕該当なし

〔その他〕

ホームページ等 該当なし

6・研究組織

(1)研究代表者

大久保牧子 (OKUBO Makiko)

横浜市立大学・医学研究科・客員研究員

研究者番号：10780611

(2)研究分担者 該当なし

(3)連携研究者 該当なし

(4)研究協力者 該当なし