

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：13201

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20563

研究課題名(和文) 口腔癌担癌宿主における化学療法を用いた免疫抑制細胞集団の治療標的化

研究課題名(英文) Chemotherapy induces phenotypic alterations of tumor cells that facilitate antitumor T cell responses in a mouse model of oral cancer

研究代表者

今上 修一 (IMAE, SHUICHI)

富山大学・附属病院・助教

研究者番号：80456392

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではマウス口腔癌モデルで化学療法の抗腫瘍効果を免疫学的解析を用いて検討した。マウス口腔癌モデルで化学療法による腫瘍細胞のアポトーシスを調べた。また化学療法が担癌マウスにおける免疫細胞の分布に影響するか調べた。化学療法は、*in vitro*で有意な口腔癌細胞アポトーシスを誘導し、*in vivo*ではマウス腫瘍増殖を著しく減弱させ、担癌マウスのMDSCおよびB細胞を減少させた。さらにCD80、CD86、CD40など免疫補助分子および接着分子の発現を増強した。これらの結果は、化学療法が口腔癌の治療における抗腫瘍効果を促進する宿主抗腫瘍免疫応答を誘導し得ることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we investigated the antitumor effects of chemotherapy using a mouse oral cancer model using immunological analyses. We examined apoptotic cell death of tumor cells with chemotherapy both *in vitro* and *in vivo*. We also investigated whether *in vivo* administration of chemotherapy affected the distributions of immune cells in tumor-bearing mice. Chemotherapy induced significant oral cancer-cell apoptosis *in vitro*, and *in vivo* chemotherapy markedly attenuated established mouse tumor growth. *In vivo* chemotherapy decreased the numbers of both myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) and B cells in tumor-bearing mice. Moreover, chemotherapy upregulated tumor-cell surface expressions of several immune accessory molecules and adhesion molecules, including CD80, CD86, CD40, ICAM-1, VCAM-1, and P-selectin. These results suggest that chemotherapy can induce host antitumor immune responses, which would facilitate antitumor effects in the treatment of oral cancer.

研究分野：口腔がん

キーワード：免疫化学療法

1. 研究開始当初の背景

もともと、化学療法は癌細胞の細胞周期やアポトーシスのシグナルに直接働きかけることで癌細胞を死滅させることである。しかし、化学療法剤の使用は、宿主の防御に重要な役割を果たしている免疫系に対しても様々な影響が及ぼすため、抗腫瘍効果と表裏に有害事象の発生が問題となる。

OK-432 や PSK、または IL-2 や IL-12 などのサイトカインは、免疫補助薬として化学療法剤と併用して宿主の免疫反応を増強することを目的として使用されてきた。

免疫補助薬には、腫瘍細胞に直接的に作用して、腫瘍細胞の増殖を抑制させる効果や、腫瘍細胞の形質変化を誘導する効果などを示すものもあるが、これらの最も重要な作用は、化学療法により低下した宿主の免疫能を回復させる効果や、T 細胞、NK 細胞、CTL などのエフェクター細胞やマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞を活性化し、宿主の抗腫瘍免疫応答を刺激する働きを期待するものである。

しかし、免疫学の理解がさらに進むにつれ、担癌状態においては、これらのエフェクター細胞や抗原提示細胞が十分に機能を発揮できない状態にあることが理解されつつある。そして、その原因の一つに担癌宿主における癌免疫逃避機構がある。

この癌免疫逃避機構とは、癌細胞が宿主内の抗腫瘍免疫反応から逃れる仕組みであり、その仕組みにおいて、最近注目されているのが、T 細胞上に発現する PD-1 や CTLA4 などの免疫チェックポイント分子群の発現増強や、制御性 T 細胞 (Regulatory T cell:Treg) や未成熟ミエロイド系抑制細胞 (Myeloid derived suppressor cell:MDSC) などに代表される担癌状態において著しく増加する免疫抑制性細胞集団があり、これらの存在により、担癌宿主では、エフェクター細胞の機能が著しく抑制され、抗腫瘍免疫反応が抑制される結果

となることが示唆されている。

従来から化学療法は、宿主の免疫系に対しては抑制的に働くと考えられてきた。

しかし、近年ある種の化学療法剤には宿主の免疫系を賦活する働きのあることが報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、ある種の化学療法剤が使用時期や投与量によって、担癌宿主における抗腫瘍免疫反応を増強する効果を発揮するかどうかを検討するため、口腔癌マウスモデルを用いて、各種化学療法剤の投与時期および投与量を各種設定して、T 細胞免疫応答に与える影響ならびに各種免疫細胞の変化について、さらに解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

C3H マウスと同マウス由来の扁平上皮癌細胞 SCCVII 細胞を用いたマウス口腔癌モデルを作製し、各種の化学療法剤を低用量で複数の投与量を設定し、単独または免疫補助因子との併用投与を行い、腫瘍、腫瘍所属リンパ節、末梢にリンパ節、末梢血、脾臓などの各臓器における免疫細胞の出現頻度や形質変化、機能変化に焦点を当てた免疫学的解析を行う。また、化学療法剤と免疫補助因子との併用療法の抗腫瘍効果に関して、同マウス口腔癌モデルを用いた治療実験により評価する。

4. 研究成果

C3H マウス と同マウス由来の扁平上皮癌細胞 SCCVII 細胞を用いたマウス口腔癌モデルを作製し、各種の化学療法剤を低用量で複数の投与量を設定し、単独または免疫補助因子との併用投与を行い、腫瘍、腫瘍所属リンパ節など各臓器における免疫細胞の出現頻度や形質変化、機能変化に焦点を当て免疫学的解析した。腫瘍移植後 3 週目の口腔癌モデルマウスに化学療法剤のゲムシタピンを

腹腔内に投与し、マウスから腫瘍組織、頸部リンパ節、末梢リンパ節(単径、腋窩)、脾臓、末梢血をそれぞれ採取し、免疫系細胞としてCD4陽性T細胞、CD8陽性T細胞、CD19、B220陽性B細胞、F4/80陽性マクロファージ、CD11c陽性樹状細胞、NK1.1陽性NK細胞、CD4、CD25、Foxp3陽性Treg、CD11b、Gr-1陽性MDSCの発現頻度を確認した。その結果、ゲムシタピン投与は、担癌マウスにおけるMDSCとB細胞の割合が有意に減少され(図1 a,b)、さらに腫瘍細胞におけるT細胞共刺激分子群であるCD80、CD86、CD40、CD54、MHC-ClassII、P-selectin、VCAM-1、ICAM-1などの発現を増強させ(図2) それらの腫瘍細胞は、invitroでの共培養の実験系であるMixed lymphocyte reactionで、T細胞の活性化を誘導すること、T細胞の腫瘍組織へのmigrationを促進することをTcell homing assayにより明らかとなった(図3)。以上の結果、口腔癌担癌宿主への低用量ゲムシタピンの投与は、担癌宿主における抗腫瘍免疫応答を修飾する有効な手段であることが示唆された。

図1

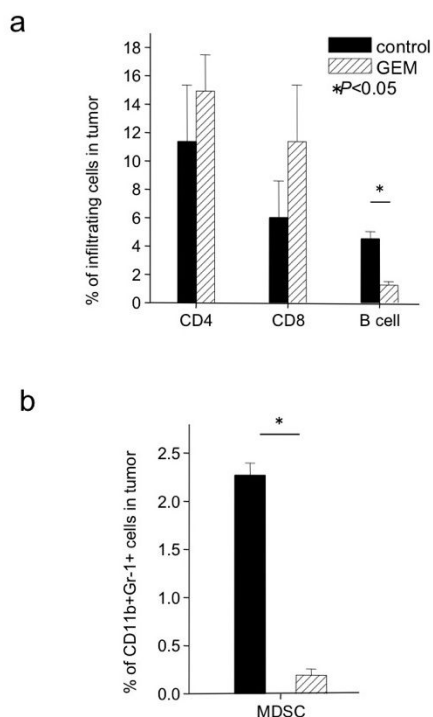


図2

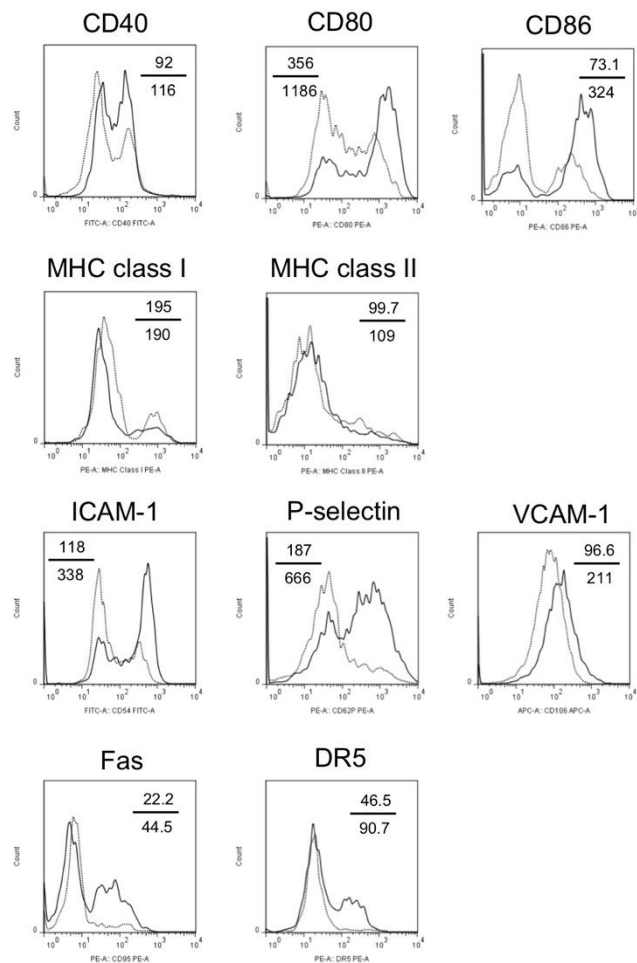
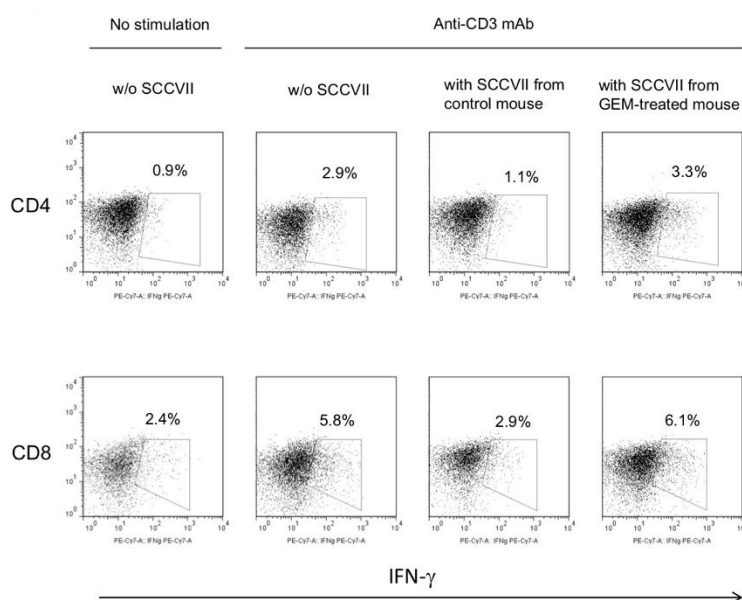


図3



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 2 件)

1. Kimura Y 他 10 名, Imaue S (4 番目), Noguchi M (11 番目). [Conventional osteosarcoma of the mandible successfully treated with radical surgery and adjuvant chemotherapy after responding poorly to neoadjuvant chemotherapy: a case report.](#) J Med Case Rep.2017 11:210 査読有
2. Imaue S, Tomihara K, Hamashima T, Tomizawa G, Nomura K, Sasahara M, Noguchi M. Successful multimodal treatment of intraoral salivary duct carcinoma in a patient with multiple lymph node metastases: a case report. [World J Surg Oncol.](#) 2017 15:18 査読有

[学会発表](計 1 件)

1. Imaue S, Tomihara K, Noguchi M
Compound subscapular system free-tissue transfer for maxillofacial reconstruction
Nepalese association of oral and maxillofacial surgeons(国際学会)

[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 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]

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

今上 修一(IMAUE, Shuichi)

富山大学・附属病院

助教

研究者番号: 80456392