

令和元年9月9日現在

機関番号：22701
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2016～2018
課題番号：16K20599
研究課題名(和文) 口腔癌リンパ節転移における骨髄細胞の役割

研究課題名(英文) Role of CD11b+BMDCs in lymph node metastasis

研究代表者

杉浦 圭 (Sugiura, Kei)

横浜市立大学・医学研究科・共同研究員

研究者番号：50771086

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：口腔扁平上皮癌のリンパ節転移に関して、癌の微小環境の環境変化が転移に関わっている可能性を研究した。腫瘍移植舌に対する外科的介入により微小環境の変化をもたらし、転移への影響を検討した。原発腫瘍への介入により転移は促進された。CD11b+細胞の流入では外科的介入の早期では有意差を認めた。長期間では大きな差を認めなかった。流入LYVE-1+細胞数は有意差を認めなかった。しかし、介入群には環状構造を認めない細胞群を認めそれらが転移促進に関わっている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌の全癌に占める割合は約1-2%程度とされている。進行癌や頸部リンパ節転移を有する症例の予後は不良であり、現在のところX線やPETによる画像検索を行っても頸部リンパ節転移の診断精度は70%程度とされている。しかし頸部リンパ節転移のメカニズムはほとんど明らかになっていない。本研究では口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移のメカニズムに関して行った。癌本体への介入による特定の細胞群の流入などの環境変化によりリンパ節転移が促進される可能性を認めた。

研究成果の概要(英文)：We investigated lymph node metastasis of oral squamous cell carcinoma, focusing on the environment of cancer micro-environment. The surgical intervention on the tumor-implanted tongue resulted in changes in the micro-environment and examined its impact on metastasis. The intervention to the primary tumor promoted lymph node metastasis. There was a significant difference in the influx of CD11b+ cells early in the surgical intervention. There was no significant difference in the long term. The numbers of influx LYVE-1+ cells were not significantly different. However, in the intervention group, cells without cyclic structure were found, suggesting that they might be involved in promoting metastasis.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔扁平上皮癌 リンパ節転移 癌微小環境

様式 F-19-1

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因の第1位である悪性新生物(癌)は、昭和56年以降日本人の死因第1位となり、平成20年の全死亡者に占める割合は30%であり増加し続けている。口腔癌の全癌に占める割合は約1-2%程度とされているが、その中で舌癌の発生率が最も高く、口腔癌全体の60%近くに達する。5年生存率はおおよそ60~70%であるとされているが、進行癌や頸部リンパ節転移を有する症例の予後は不良であり、現在のところ画像検索を行っても頸部リンパ節転移の診断精度は70%程度とされている。

近年他の癌種も含め、腫瘍周囲に形成される微小環境が腫瘍の増殖・転移に関わっている可能性を示唆する報告がある。癌微小環境には癌細胞以外に血管内皮細胞やリンパ管内皮細胞、炎症細胞(血球細胞)などから構成される。リンパ節転移に対し、それらが転移ニッチを形成し関わっている可能性はあるが十分には解明されていない。

2. 研究の目的

口腔癌の頸部リンパ節転移は人の生存予後を著しく低下させる。そのため今後克服すべき課題である。そこで頸部リンパ節転移のメカニズムを解明することにより頸部リンパ節転移の制御を積極的に行うことのできる新たな治療薬の開発につながると考えた。しかしながら癌のリンパ節転移のメカニズムはほとんど明らかになっておらず手術以外の有効な治療法がないのが現状である。

他研究より癌細胞の微小環境の低酸素状態により、一部の骨髄由来単球細胞の流入が増加し、その後の腫瘍周囲環境への血管新生の促進の可能性が指摘されている。加え、以前より炎症とリンパ管新生は密接なかわりがあり、炎症は組織におけるリンパ管の新生を促進するという報告もある。そこで本研究では、口腔癌での微小環境が転移ニッチの確立やリンパ節転移に関与しているかを解明することを目指す。

3. 研究の方法

ヒト舌癌細胞株 OSC-19-Luc(扁平上皮癌)を BALB/c ノードマウスの舌に移植し、口腔癌同所移植モデルを確立し、同モデルにおいて頸部リンパ節への転移が起きることを確認する。そしてマウスの舌に対する外科的介入(舌部分切除: gs 群)を行う群と腫瘍移植のみで何も介入を行わない群(control)に分ける。外科的介入により腫瘍周囲の微小環境を変化させ、どのような変化がもたらされるかを観察し、解析する。同所移植モデルマウスは IVIS system によるライブイメージングシステムにより、舌腫瘍の増殖の定量的評価及び頸部リンパ節転移の有無を、マウスを生かしたまま経時的に評価する。その後マウスを屠殺し舌及び頸部リンパ節組織を採取する。検体をスライスし、抗原タンパク CD11b や LYVE-1(リンパ管内皮細胞のマーカー)でそれぞれ経時的採取した検体を蛍光二重染色法により染色することにより、外科的介入後のどのタイミングで CD11b+細胞の流入があるか、リンパ管内皮細胞によるチューブオーメンションがなされるかを評価する。その後、可能であれば他の表面抗原タンパクを用い流入している骨髄由来単球細胞のサブセットまで解析を行うことを目標とする。

4. 研究成果

ヒト舌癌細胞株 OSC-19-Luc (扁平上皮癌)を BALB/c ノードマウスの舌に移植し、口腔癌同所移植モデルを確立し、同モデルでの control 群において頸部リンパ節への転移が起きることを確認した(Fig.1)。移植した舌腫瘍は生着し増殖を認めた。癌細胞は周囲組織に浸潤し、頸部リンパ節への転移を起こすことが確認された。次に control 群と gs 群での頸部リンパ節転移率では、経時的観察において gs 群では control 群に比して、高いリンパ節転移率となった(Fig.2)。

Fig.1: OSC-19 移植舌及び転移リンパ節 (HE 染色)

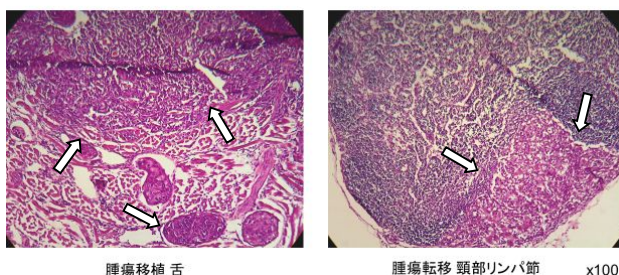
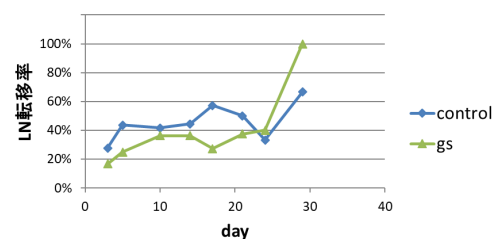
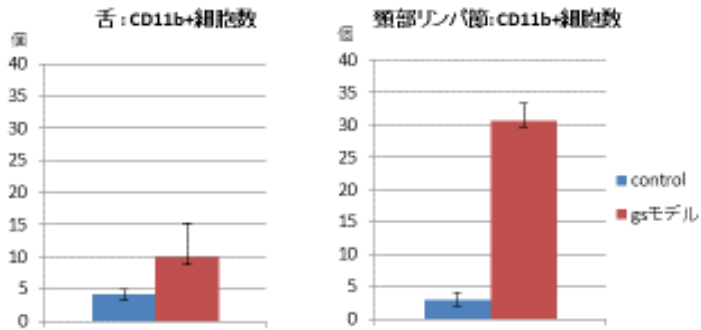
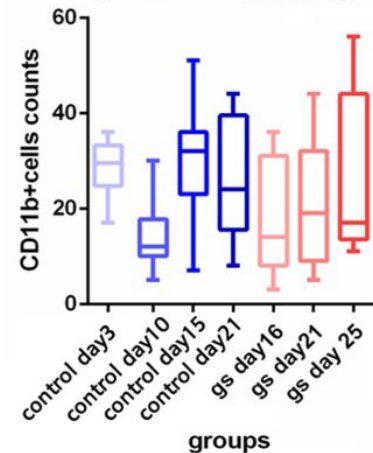


Fig.2 リンパ節転移率



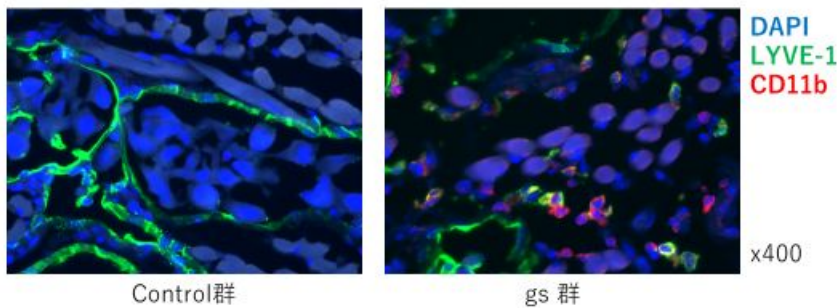
抗体を用いた免疫二重染色を行い、それぞれの検体における CD11b+細胞の数に違いがあるかを検討した。×400 倍視野にてカウントし、腫瘍細胞を移植した舌、及び頸部リンパ節に対する CD11b+細胞数では gs 群が control 群に比して多いことが示唆された(Fig.3)。次に、control 群及び gs 群を時系列に屠殺し、腫瘍を移植した舌に対する CD11b+細胞の流入数を比較した。gs 群は腫瘍移植後 day14 にて外科的介入を行っている。同結果では CD11b+細胞の流入数では有意差は認めなかった(Fig.4)。

Fig.3

Fig.4: 時系列でみた
舌へのCD11b+細胞流入数

しかし、gs 群の原発腫瘍の検体では蛍光二重染色において、CD11b+細胞に加え LYVE-1+細胞の流入を認めた。それらの細胞はリンパ管としての環状構造を作っておらず遊走性があるように思われた。これは血管新生において angiogenesis と vasculogenesis の違いとして認識されるように、リンパ管新生がすでにそこに存在するリンパ管より増殖・分枝していくのではなく、循環細胞として遊走性を持った細胞が働きかけることにより新たなリンパ管を構築している可能性が示唆される。今後それらの細胞群のサブタイプの検討が必要であると考えられる (Fig.5)。

Fig.5



5. 主な発表論文等 (研究代表者は下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

1. Kei Sugiura; Mitomu Kioi; Tomohiro Iisaka; Makiko Okubo; Hideyuki Nakashima; Kenji Mitsudo; Iwai Tohnai
' Role of CD11b+BMDCs in lymph node metastasis: a study in an orthotopic nude mouse model of squamous cell carcinoma of the oral tongue. ' : The International Academy of Oral Oncology (2017 India)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

研究協力者
なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。