

令和 2 年 6 月 12 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11879

研究課題名(和文) 口腔癌におけるC5a-C5a受容体系の癌促進作用解析と標的治療への応用

研究課題名(英文) Analysis of cancer promoting action of C5a-C5a receptor system and its application to targeted therapy in oral cancer

研究代表者

尾木 秀直 (OGI, HIDENAO)

熊本大学・病院・非常勤診療医師

研究者番号：10315426

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：舌癌や腺様嚢胞癌の1/4から1/3の症例での癌細胞C5a受容体発現を証明し、口腔癌とC5a-C5a受容体系の関係をヒトで明らかにした。また、免疫複合体による補体系活性化で産生された内因性C5aにより、マウス皮膚に接種したC5a受容体陽性癌細胞の浸潤や腫瘍形成が亢進すること、癌免疫応答を抑制する骨髄由来抑制細胞も動員されることを示した。さらに、C5aによる癌促進作用のC5a受容体拮抗剤による抑制効果から、この系を標的とした治療法の有効性を示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌には手術以外に放射線、抗癌剤による治療が行われるが、これらの治療法は特異性が低く嚥下障害等の様々な合併症を起こし患者の日常生活に大きな支障をもたらす。今回の研究で解明した癌細胞のC5a受容体発現と内因性C5aによる癌促進はC5a-C5a受容体経路を標的とした新規の癌治療法の有効性を示す。抗C5a受容体抗体やC5a受容体拮抗剤はこの経路を特異的に遮断するので、侵襲や合併症の少ない治療法として期待される。

研究成果の概要(英文)：Cancer cell C5a-receptor (C5aR) expression in one fourth to third of tongue or adenoid cystic carcinoma cases indicated an association of the C5a-C5aR system with human oral cancers. C5a generated in the mouse skin site through the activation of the complement system triggered by the immune complexes enhanced invasion and tumor formation of C5aR-positive mouse cancer cells inoculated into the site and recruited myeloid-derived suppressor cells that suppress the anti-tumor immune responses. Inhibition of the cancer promoting effects of C5a by a C5aR antagonist suggested an availability of the therapy targeting the C5a-C5aR system.

研究分野：口腔外科

キーワード：C5a-C5a受容体経路 舌癌 腺様嚢胞癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔癌には手術以外に放射線、抗癌剤による治療が行われるが、これらの治療法は特異性が低く嚥下障害等の様々な合併症を起し患者の日常生活に大きな支障をもたらす。その為、侵襲や合併症の少ない新規の治療法の開発が渴望されている。そこで、C5a-C5a 受容体系の口腔癌治療標的としての可能性を検討した。

2. 研究の目的

患者口腔癌および株化口腔扁平上皮癌での C5a 受容体発現の証明

ヒト C5a 受容体陽性口腔癌患者の臨床病理学的パラメーターや予後を陰性患者と比較し、ヒト口腔癌における C5a-C5a 受容体系の癌促進への関連性の証明

C5a 受容体発現癌細胞の C5a 刺激による増殖、運動性、浸潤、転移亢進の証明

C5a による口腔癌増殖・浸潤亢進作用の C5a 受容体拮抗剤、抗 C5a 受容体抗体 および、補体系枯渇による抑制 効果の証明

C5a 受容体抗体による口腔癌転移抑制効果の証明

3. 研究の方法

癌細胞 C5a 受容体発現と患者癌促進、予後との関係解析

手術切除によって採取された口腔癌組織パラフィンブロック標本(附属病院病理部に保存)を対象として、抗ヒト C5a 受容体抗体(Hycult biotechnology 社製)による免疫組織染色(EnVision+ system:Dako 社製)を行い、C5a 受容体発現癌細胞の種類と頻度を調べた。また、C5a 受容体陽性群と陰性群間で臨床病理学的パラメーター(腫瘍径、核異型度、脈管侵襲、リンパ節転移、臨床病期等)や生存率を調べ統計学的な解析を行った。

培養ヒト癌細胞の C5a 受容体発現の検討および C5a 受容体発現修飾細胞作製

口腔癌の株化癌細胞に対して、RT-PCR と抗 C5a 受容体抗体を用いた細胞抽出液の Immunoblotting を行い、C5a 受容体を発現している癌細胞株を mRNA とタンパク質の両方で決定し、FITC 結合抗 C5a 受容体抗体による flow cytometry で細胞膜発現を確認した。また上記で明らかになった C5a 受容体陰性癌細胞にヒト C5a 受容体遺伝子発現プラスミド(OriGene)をリン酸カルシウム法で導入して C5a 受容体強発現細胞を作製した。さらに上記で明らかになった C5a 受容体陽性癌細胞から C5a 受容体の siRNA によって C5a 受容体陰性化した細胞を作成した。

4. 研究成果

癌細胞 C5a 受容体発現と患者癌促進、予後との関係解析: 熊本大学附属病院の口腔外科で採取した舌癌組織のパラフィン薄切片を使って、抗ヒト C5a 受容体抗体と EnVision システムによる免疫組織染色を行った。26 例中 10 例が C5a 受容体陽性で陽性率 38.5%だった。培養ヒト癌細胞の C5a 受容体発現の検討および C5a 受容体発現修飾細胞作製し舌癌細胞株での C5a 受容体 mRNA 発現を quantitative RT-PCR で測定した。調べた SAS、CA-9、HOC313、HSC-2 のすべてで C5a 受容体 mRNA 発現がみられ、特に CA-9 と HSC-2 が強かった。Flow cytometry で C5a 受容体抗原の細胞膜

表面発現を解析すると、SAS、CA-9、HSC-2、HOC313 で発現がみられたが、OSC19 ではほとんど発現がなかった。

C5a 受容体発現癌細胞に対する C5a の作用の検討：内因性 C5a による癌細胞への作用を調べるために、Balb/c マウスの皮内に同種同系統のマウス癌細胞の Renca 細胞を抗 BSA 抗体と一緒に注射し、抗原である BSA の尾静脈注射で癌接種部に自己免疫病モデルであるアレルギー反応を誘導した。コントロール細胞に比較して C5a 受容体(C5aR)発現細胞の方がアレルギー反応による内因性 C5a 産生によって腫瘍径が 7 日目で 1.4 倍、14 日目で 1.6 倍大きくなった。アレルギー反応を誘導しない場合は両細胞の腫瘍の大きさに有意な差はみられなかった。癌接種部皮膚組織標本を抗 CD11b 抗体と抗 Ly6g 抗体で蛍光免疫染色し、両抗体に共に陽性の骨髄由来抑制細胞(MDSC)の浸潤を調べると、アレルギー反応で C5aR 陽性 癌細胞および陰性癌細胞接種皮膚で有意に数が増加していたが癌細胞部での差は C5a 受容体発現の有無でみられなかった。ヒト癌細胞 HuCCT1 細胞をヌードマウスに尾静脈から注射し肺での結節形成を調べると、6 週間後に C5a で刺激された C5a 受容体陽性細胞は非刺激 C5a 受容体陽性細胞や C5a 刺激 C5a 受容体陰性細胞に比較して大きくかつ数倍の数の肺結節を形成した。以上より、C5a は数日間の in vitro 培養での癌増殖促進作用は観察されていないが、C5a-C5aR 系が潜在的に癌増殖亢進作用をもち、CD8+ T 細胞の抗腫瘍反応を抑制する MDSC 細胞の C5a による動員も関与して腫瘍形成が亢進すると考えられた。この作用は自己免疫病をもつ癌患者の悪い予後に関与する機序の一つとして提唱される。さらに、C5a による C5a 受容体を介した転移結節形成促進作用も明らかになった。

C5a-C5a 受容体系をターゲットにした治療法の試み：C5a 受容体拮抗剤 W-54011 によって癌細胞の C5a による C5a 受容体発現癌増殖促進作用、および浸潤亢進作用が抑制されることが解った。さらに舌癌や腺様嚢胞癌の 1/4 から 1/3 の症例での癌細胞 C5a 受容体発現を証明し、口腔癌と C5a-C5a 受容体系の関係をヒトで明らかにした。また、免疫複合体による捕体系活性化で産生された内因性 C5a により、マウス皮膚に接種した C5a 受容体陽性癌細胞の浸潤や腫瘍形成が亢進すること、癌免疫応答を抑制する骨髄由来抑制細胞も動員されることを示した。さらに、C5a による癌促進作用の C5a 受容体拮抗剤による抑制効果から、この系を標的とした治療法の有効性を示唆した。

口腔癌には手術以外に放射線、抗癌剤による治療が行われるが、これらの治療法は特異性が低く嚥下障害等の様々な合併症を起こし患者の日常生活に大きな支障をもたらす。今回の研究で解明した癌細胞の C5a 受容体発現と内因性 C5a による癌促進は C5a-C5a 受容体経路を標的とした新規の癌治療法の有効性を示す。抗 C5a 受容体抗体や C5a 受容体拮抗剤はこの経路を特異的に遮断するので、侵襲や合併症の少ない治療法として期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Yoneda M, Imamura R, Nitta H, Taniguchi K, Saito F, Kikuchi K, Ogi H, Tanaka T, Katabuchi H, Nakayama H, and Imamura T.	4. 巻 17
2. 論文標題 Enhancement of cancer invasion and growth via the C5a-C5a receptor system: Implications with cancer promotion by autoimmune diseases and association with cervical cancer invasion.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncol. Lett.	6. 最初と最後の頁 913-920
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2018.9175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ogi H, Tanaka T, Yoshitake Y, Shinohara M, Nakayama H, and Imamura T.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 A rare mandibular osteosarcoma case of Li-Fraumeni syndrome with a germline p53R273H mutation.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J.ORAL AND MAXILLOFACIAL SURG, MED, AND PATHOL	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松岡祐一郎、吉田遼司、廣末晃之、坂田純基、有田英生、中嶋光、尾木秀直、平木昭光、篠原正徳、中山秀樹
2. 発表標題 抗酸化ストレス調節因子であるNrf2は口腔扁平上皮癌の放射線耐性を制御する
3. 学会等名 第36回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 竹下尚志、吉田遼司、松田智也、内藤久貴、川原健太、田中拓也、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、中山秀樹
2. 発表標題 口腔癌治療における放射線性口腔粘膜炎の予防対策
3. 学会等名 第15回日本口腔ケア学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永尾優果、廣末晃之、吉田遼司、中嶋光、坂田純基、劉隣、中村拓哉、川原健太、永田将士、福間大喜、尾木秀直、中山秀樹
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌患者における術前栄養評価の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第72回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川口翔、吉田遼司、坂田純基、有田英生、中嶋光、郷原俊輔、永尾優果、山名啓介、廣末晃之、川原健太、福間大喜、尾木秀直、中山秀樹
2. 発表標題 当科における新旧TNM分類の比較と問題点
3. 学会等名 九州地区口腔癌研究会 第22回学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 宮原知也、中村拓哉、川原健太、内藤久貴、坂田純基、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、吉田遼司、中山秀樹
2. 発表標題 臨床所見より悪性腫瘍を疑った骨形成性エプーリスの一例
3. 学会等名 第86回日本口腔外科学会九州支部学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 郷原俊輔、廣末晃之、前城学、川口翔、山名啓介、永尾優果、中嶋光、福間大喜、尾木秀直、吉田遼司、中山秀樹
2. 発表標題 下顎の偏位を伴った下顎頭骨軟骨種の1例
3. 学会等名 第31回日本顎関節学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中山翔太 福間大喜 川口翔 川原健太 廣末晃之 尾木秀直 吉田遼司 中山秀樹
2. 発表標題 歯科治療に偶発した異物迷入に対し外科的摘出及び内視鏡的摘出を行った2症例
3. 学会等名 第19回日本口腔顎顔面外傷学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川口翔、川原健太、廣末晃之、坂田純基、郷原俊輔、山名啓介、永尾優果、福間大喜、尾木秀直、吉田遼司、中山秀樹
2. 発表標題 右側側頭部の腫脹を契機に発見された皮膚筋炎の1例
3. 学会等名 第28回日本口腔内科学会 第31回日本口腔診断学会 合同学術学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shunsuke Gohara , Ryoji Yoshida , Sho Kawaguchi , Yuka Nagao , Keisuke Yamana , Hidetaka Arita , Junki Sakata , Hikaru Nakashima , Akiyuki Hirotsue , Kenta Kawahara , Daiki Fukuma , Hidenao Ogi , Hideki Nakayama
2. 発表標題 Clinical significance of serum p53 antibody in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井上和繁、平山真敏、吉田遼司、尾木秀直、福間大喜、廣末晃之、高橋望、有田英生、東家亮、村上龍次、大屋夏生、山下康行、中山秀樹
2. 発表標題 口腔癌に対する化学放射線治療におけるスペーサー、および補綴物除去の有効性の検討
3. 学会等名 第56回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 飽田 美和子、竹下 尚志、郷原 俊輔、假屋 綾華、川原 健太、廣末 晃之、福間 大喜、尾木 秀直、吉田 遼司、中山 秀樹
2. 発表標題 若年者の下顎骨に生じたEwing肉腫に対し多職種連携により治療を行った1例
3. 学会等名 第63回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 假屋綾華、内藤久貴、中村拓哉、川原健太、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、吉田遼司、中山秀樹
2. 発表標題 右側頬部の急激な腫脹と骨破壊像から悪性腫瘍を疑った顎放線菌症の1例
3. 学会等名 第63回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中村拓哉、前城学、川原健太、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、吉田遼司、中山秀樹
2. 発表標題 TGFb2-SDF-1-CXCR4シグナルが骨髄播種癌細胞の抗癌剤耐性と増殖抑制に関与している
3. 学会等名 第63回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 坂田純基、吉田遼司、廣末晃之、川原健太、松岡祐一郎、有田英生、中嶋光、福間大喜、尾木秀直、中山秀樹
2. 発表標題 SMAD4の低発現は口腔扁平上皮癌の発癌および抗癌剤抵抗性に関与する
3. 学会等名 第63回公益社団法人日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 川口翔、吉田遼司、廣末晃之、川原健太、郷原俊輔、永尾優果、福間大喜、尾木秀直、中山秀樹
2. 発表標題 当科における再発・進行口腔癌に対するNivolumabの使用経験
3. 学会等名 第37回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田遼司、川原健太、中嶋光、坂田純基、有田英生、永田将士、田中拓也、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、平木昭光、篠原正徳、中山秀樹
2. 発表標題 口腔がんにおけるmicroRNAを介した悪性形質制御
3. 学会等名 第37回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 吉田遼司、坂田純基、山名啓介、中嶋光、有田英生、川口翔、郷原俊輔、永尾優果、川原健太、廣末晃之、福間大喜、尾木秀直、平木昭光、篠原正徳、中山秀樹
2. 発表標題 予防的頸部郭清術はどのような症例で有用か? =Wait and Seeの観点から=
3. 学会等名 第37回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 尾木秀直
2. 発表標題 口腔ケアがもたらす効果とは
3. 学会等名 第63回肥後医育塾
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中拓也, 尾木秀直, 吉田遼司, 廣末晃之, 福間大喜, 川原健太, 松岡裕一郎, 坂田純基, 有田英生, 中嶋光, 今村隆寿, 中山秀樹
2. 発表標題 アンギオポエチンライク4の発現は口腔扁平上皮癌の予後マーカーとなりうる
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	今村 隆寿 (Imamura Takahisa) (20176499)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授 (17401)	
研究分担者	田中 拓也 (Tanaka Takuya) (30631767)	熊本大学・病院・非常勤診療医師 (17401)	