

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：24601  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2017～2022  
課題番号：17K11883  
研究課題名（和文）口腔がんに対するリンパ球と分子標的薬を併用した新規免疫細胞療法の確立

研究課題名（英文）Establishment of Immuno-Cell Therapy Combining Lymphocytes and Molecularily-Targeted Drugs for Oral Cancer

研究代表者  
玉置 盛浩（TAMAKI, Shegehiro）  
奈良県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：90382316  
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は活性化したリンパ球（NK細胞と T細胞）と分子標的薬であるセツキシマブを併用したがんに対する新規免疫細胞療法の確立である。研究成果としてNK細胞と T細胞の活生化培養を行い口腔がん細胞株に対する細胞障害性を検討し、セツキシマブを併用して相乗効果の検討を行った。活性化したNK細胞、T細胞は口腔がん細胞株に細胞障害性を認める傾向であったがセツキシマブを併用しても明らかな相乗効果を認めず慎重な検討が必要と思われた。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
免疫細胞療法と分子標的薬であるセツキシマブを併用した新規免疫療法の有効性を口腔がんを実証することは、口腔がん治療のみならず、新たな進行がん治療の確立に発展・寄与しえることである。国内外においても活性化培養した細胞を用いた免疫細胞療法に抗がん剤であるセツキシマブを併用することは有用な研究である。今後は活性化したリンパ球と免疫チェックポイント阻害剤であるニボルマブや放射線療法との相乗効果などの検討は期待される口腔がんの新たな治療法と思われる。

研究成果の概要（英文）：This study established a immuno-cell therapy combining activated lymphocytes (NK cells and T cells) and cetuximab, a molecularily targeted drug. As a result of this research, we examined the cytotoxicity of NK cells and T cells against oral cancer cell lines by culturing activated NK cells and T cells. In addition, the synergistic effect of cetuximab was examined in combination with cetuximab. Although activated NK cells and T cells tended to show cytotoxicity against oral cancer cell lines, no clear synergistic effect was observed when cetuximab was used in combination with NK cells and T cells, suggesting the need for careful consideration.

研究分野：がん免疫

キーワード：口腔がん 免疫細胞療法 分子標的薬

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部がん領域で初めて採用された分子標的薬であるセツキシマブは、上皮成長因子受容体 (EGFR) を標的とするヒト/マウスキメラ型モノクローナル抗体である。本抗体は、がん細胞に過剰に発現している EGFR とリガンドの結合を阻害することで、腫瘍に対する直接的阻害作用を発現する(図 1)。さらに、リンパ球に抗体依存性細胞障害 (ADCC :Antibody dependent cellular cytotoxicity)活性を誘導し腫瘍細胞を効果的に攻撃する。ADCC 活性は、がん細胞に発現している EGFR に結合したセツキシマブの Fc 部位がエフェクター細胞(NK 細胞、T 細胞)の Fc 受容体に結合し、エフェクター細胞から細胞障害因子(Perforin、Granzyme)を放出させるものである(図 1)。そのため NK 細胞や T 細胞を利用することで、セツキシマブ本来の EGFR 結合による直接阻害作用に加えて、ADCC 活性による相乗的治療効果が期待される。しかし、NK 細胞や T 細胞は末梢血中に微量しか存在せず、効率的ながん排除免疫が期待できない。近年、遺伝子組み換え産物であるレトロネクチンと抗 CD3 抗体を用いた NK 細胞の活性化培養法が報告されており、NK 細胞の有用性が注目されている(図 2)。T 細胞も重要な生体防御細胞であり、様々な抗腫瘍機構も知られている(図 3)が T も NK 細胞と同様に末梢血中に少量しか存在せず、効率的な抗腫瘍活性が期待できない。また、ビスホスホネート製剤であるゾレドロン酸と IL-2 を用いた活性化培養法を既に確立されており(図 4)、口腔がん細胞に対する細胞障害性効果の可能性が示唆されている。さらに NK 細胞、T 細胞の抗腫瘍作用に深く関与している MICA (Major histocompatibility complex (MHC) class I-related gene A) 血液中のタンパク発現量と病期進行が関連している研究成果がある。NK 細胞と T 細胞の活性化培養法を用いた抗腫瘍研究を行う基盤は十分に確立しており、がん免疫療法の問題点である免疫回避機構との関連を解析することで治療効果予測を明確にできる。

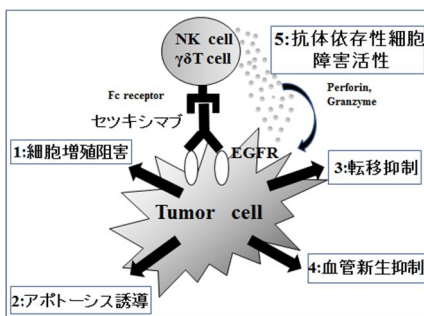


図 1 : セツキシマブの抗腫瘍作用

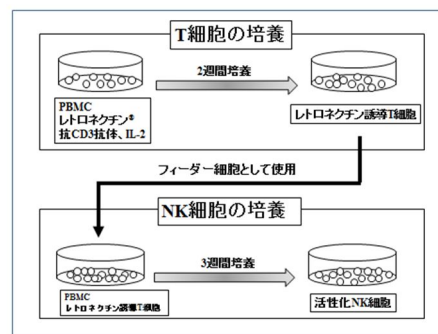


図 2 : NK 細胞の活性化培養

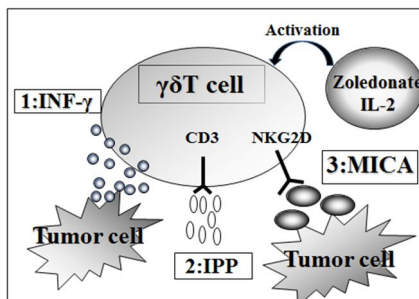


図 3 : T 細胞の抗腫瘍作用

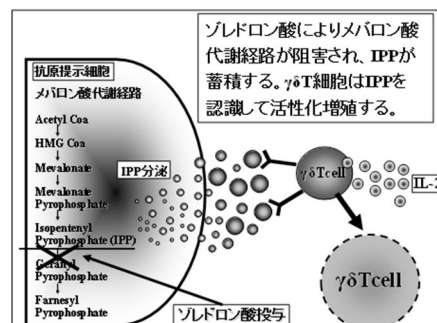


図 4 : T 細胞の活性化培養

## 2．研究の目的

本研究の目的は、がんに対して活性化リンパ球(NK 細胞、 T 細胞)とセツキシマブ(抗上皮成長因子受容体モノクロン抗体)を併用した新規免疫細胞療法を確立して効果予測を遺伝子レベルで可能にすることである。がん患者は「免疫抑制状態」であるため、リンパ球を体外で活性化・増殖させ(活性化培養)自己の体内に戻す各種の「免疫細胞療法」が有用である。この免疫療法に、がん細胞の増殖・成長にかかわる因子を標的としたモノクロン抗体(セツキシマブ)を分子標的薬として併用することで、リンパ球の抗体依存性細胞傷害活性が亢進し治療効果が増強すること、その効果レベルが遺伝子多型に依存していることを実証し確立するのが目的である。

## 3．研究の方法

本研究を遂行するための末梢血の提供、がん細胞の提供、MICA 遺伝子多型解析に関しては、倫理委員会ですでに承認されている。研究計画として、まず製品化された末梢血単核球を用いてNK 細胞、 T 細胞の活性化培養を行う。NK 細胞の培養は、レトロネクチンと抗 CD3 抗体を用いて約 3 週間の培養を行い、口腔がん細胞株に対して細胞障害性を測定する。 T 細胞の培養はビスホスホネート製剤と IL-2 を用いて約 2 週間の培養を行い、細胞障害性を測定する。次に培養した NK 細胞、 T 細胞を用いてセツキシマブ併用による相乗効果の解析を行う。また、被験者から提供された末梢血から抽出したNK 細胞、 T 細胞の培養と、提供を受けた口腔癌細胞の初代培養を行い、セツキシマブの相乗効果と MICA 遺伝子との関連を検討する。

## 4．研究成果

本研究は活性化したリンパ球(NK 細胞と T 細胞)と分子標的薬であるセツキシマブを併用したがんに対する免疫細胞療法の確立である。研究成果としてNK 細胞と T 細胞の活性化培養を行い口腔がん細胞株に対する細胞障害性を検討し、セツキシマブを併用して相乗効果の検討を行った。活性化したNK 細胞、 T 細胞は口腔がん細胞株に細胞障害性を認める傾向であったがセツキシマブを併用しても明らかな相乗効果を認めず、さらなる慎重な検討が必要と思われた。また、MICA 遺伝子とNK 細胞、 T 細胞の細胞障害性との明らかな関連性は示唆されなかった。

免疫細胞療法と分子標的薬であるセツキシマブを併用した新規免疫療法の有効性を口腔がんを実証することは、口腔がん治療のみならず、新たながん治療の確立に発展・寄与しえることである。国内外においても免疫細胞療法に抗がん剤であるセツキシマブを併用することは有用な研究である。今後は免疫細胞療法と免疫チェックポイント阻害剤であるニボルマブや放射線療法との併用は新たながんの治療法になりうると思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nobuhiro Ueda, Shigehiro Tamaki, Tadaaki Kirita, et.al	4. 巻 122
2. 論文標題 Assessment of facial symmetry by three-dimensional stereophotogrammetry after mandibular reconstruction:A comparison with subjective assessment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Stomatol Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 56-61
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Nobuhiro Ueda, Shigehiro Tamaki, Tadaaki Kirita, et al	4. 巻 25(5)
2. 論文標題 Dose inflammatory dental disease affect the development of medication-related osteonecrosis of the jaw in patienta using high-dose bone-modifying agents?	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Oral Investigations	6. 最初と最後の頁 3087-3093
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00784-020-03632-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Soichiro Ito, Yosuke Nakagawa Shigehiro Tamaki	4. 巻 295
2. 論文標題 Inhibition of the ATR kinase enhance 5-Fusensitivity independently of nonhomologous end-joining and homologous recombination repair pathways.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J.biol. chem	6. 最初と最後の頁 12946-12961
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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hiroshi Nakamura, Shigehiro Tamaki,	4. 巻 39
2. 論文標題 Relationship Between EGFR Expression in oral cancer cell lines and cetuximab antibody-dependent cell mediated cytotoxicity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer reseach	6. 最初と最後の頁 1275-1282
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4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 玉置盛浩
2. 発表標題 Nivolumab 治療中にpseudo-progressionを示した再発上顎歯肉癌の1例
3. 学会等名 第43回 日本頭頸部癌学会 総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 玉置盛浩
2. 発表標題 高齢者再発口腔癌に対するニボルマブによる治療の検討
3. 学会等名 第38回 日本口腔腫瘍学会 総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 玉置盛浩 吉岡元
2. 発表標題 ニボルマブ投与後に副腎皮質機能不全を生じた上顎歯肉癌の1例
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 玉置盛浩
2. 発表標題 高齢者再発下顎歯肉癌に対してニボルマブを使用した1例
3. 学会等名 第55回日本がん治療学会
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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------