

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K10262

研究課題名(和文) 骨髄由来免疫抑制性細胞の特性解析による口腔癌の新規免疫療法の開発

研究課題名(英文) Novel strategy for oral cancer targeting myeloid-derived suppressor cells

研究代表者

富原 圭 (Tomihara, Kei)

新潟大学・医歯学系・教授

研究者番号：70404738

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌に対する有効な免疫療法の開発を目的とし、免疫チェックポイント阻害薬による抗腫瘍効果を最大限に引き出す新規免疫療法の可能性について究明した。ヒトにおけるがんの発生に近い動物モデルの作製として老齢C3H/HeNマウスと、同マウス由来口腔扁平上皮癌細胞株NR-S1K細胞を用いた老齢マウス口腔癌モデルを作製し、老齢担癌宿主における免疫抑制機序について解析を行った。老齢口腔癌マウスでは若齢のものに比べて、免疫抑制性細胞の割合が増加し、さらにメモリーT細胞の割合も増加していた。以上の結果、口腔癌担癌宿主の加齢変化に伴う免疫抑制においては、免疫抑制性細胞の増加がその一端を担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

口腔癌は、その発生部位の解剖学的特徴から、外科治療においては口腔機能が大きく損なわれることもしばしばで、患者のQOLの面から、口腔の機能温存に資する新規治療法が求められる。本研究成果は、担癌宿主における免疫抑制性細胞であるMDSCの標的化が、効果的な抗腫瘍免疫応答の誘導において重要である可能性が示した結果である。また、老齢の担癌宿主における免疫逃避の要因の一つとしても考えられることから、免疫抑制性細胞の標的化と免疫老化に伴う免疫抑制状態の解除は、効果的な癌免疫療法の開発にとって重要と考えられた。

研究成果の概要(英文)：We investigated whether aging affected the proportion of these immune regulatory cells in oral cancer-bearing mice. The proportion of MDSCs was significantly increased in tumors but not in other organs of aged mice compared to that in young mice. The proportions of CD44 high and CD62L low CD4 T cells were significantly increased in peripheral blood, cervical lymph nodes, peripheral lymph nodes, spleen, and tumors of aged mice compared to those in young mice. The proportions of CD44 high and CD62L low CD8 T cells were significantly increased in peripheral blood, cervical lymph nodes, peripheral lymph nodes, spleen, but not in tumors of aged mice compared to that in young mice.

Our results indicate that age-associated alterations in the immune system are directly associated with the impairment of anti-tumor immunity in aged mice bearing oral cancer, and might facilitate the progression of the tumor.

研究分野：口腔外科学

キーワード：口腔癌 骨髄由来免疫抑制性細胞 免疫療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔癌は、その発生部位の解剖学的特徴から、外科治療においては口腔機能が大きく損なわれることもしばしばで、患者の QOL の面から、口腔の機能温存に資する新規治療法が求められる。昨今、免疫チェックポイント分子を標的とした免疫療法の登場は、切除不能進行癌や再発癌に対して、当初期待した以上の優れた臨床的効果を示すこともあり、さらに期待が高まっている。しかし、これらのがん免疫療法の問題点は、その効果が一部の患者において限定的に認められることであり、より有効な治療戦略の開発が求められる。

免疫チェックポイント分子とは、抗原提示細胞と T 細胞との相互作用において抑制的に働く分子群の総称で、T 細胞上に発現する PD-1、CTLA-4 と、PD-1 のリガンドとして働く PD-L1 であり、それらの分子間による相互作用が、T 細胞免疫応答の抑制に強く影響していることが知られている。これらに対する標的化抗体薬は、すでに本邦においても口腔癌を含む多くの悪性腫瘍に対して承認となっているが、その治療効果に影響を与える宿主の因子については、不明な点も多く、治療成績の改善にはさらなる解析が必要である。

担がん宿主では、様々な機序により免疫が抑制状態にある。なかでも、免疫抑制性細胞の骨髄球形由来の免疫抑制性細胞 (Myeloid-derived suppressor cell: 以下 MDSC) は、腫瘍局所のみならず様々な臓器で増加し、担がん宿主における抗腫瘍免疫応答の抑制に強く影響していることが示唆されている。そのため、免疫チェックポイント阻害薬を用いたがん免疫療法の効果を最大限に発揮するためには、担がん宿主におけるこの MDSC の特性解析による標的化が重要な鍵を握ると考えられる。しかし、現在のところ、口腔癌における MDSC の同定やその機能解析は十分には行われておらず不明な点も多いことから、申請者らはこれまで、シンジェニックの口腔癌担がんマウスを用いた基礎的解析によって、MDSC が腫瘍組織で著しく集簇し、その表面マーカーとしては、CD11b、Gr-1 であり、さらに免疫チェックポイント分子の一つである PD-L1 の発現が特に腫瘍局所における免疫抑制能に影響していることを解明してきた。

2. 研究の目的

担がん宿主における MDSC の免疫抑制細胞としての形質や機能については、申請者らのこれまでの研究成果を含め、様々な研究者によってその役割が明らかとなつてはいるものの、免疫チェックポイント阻害薬の効果との関連において、MDSC がどのように影響しているかについてはいまだに不明なままである。そこで本研究は、口腔癌に対する有効な免疫療法の開発を目的とし、担がん宿主で増加する骨髄球形由来の免疫抑制性細胞の特性解析により、免疫チェックポイント阻害薬による抗腫瘍効果を最大限に引き出す新規免疫療法の可能性について究明することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、ヒトにおけるがんの発生に近い動物モデルの作製として、17 月齢の老齢 C3H/HeN マウスと、同マウス由来口腔扁平上皮癌細胞株 NR-S1K 細胞を用いたシンジェニックの老齢マウス口腔癌モデルを作製し、以下の内容について検証を行った。

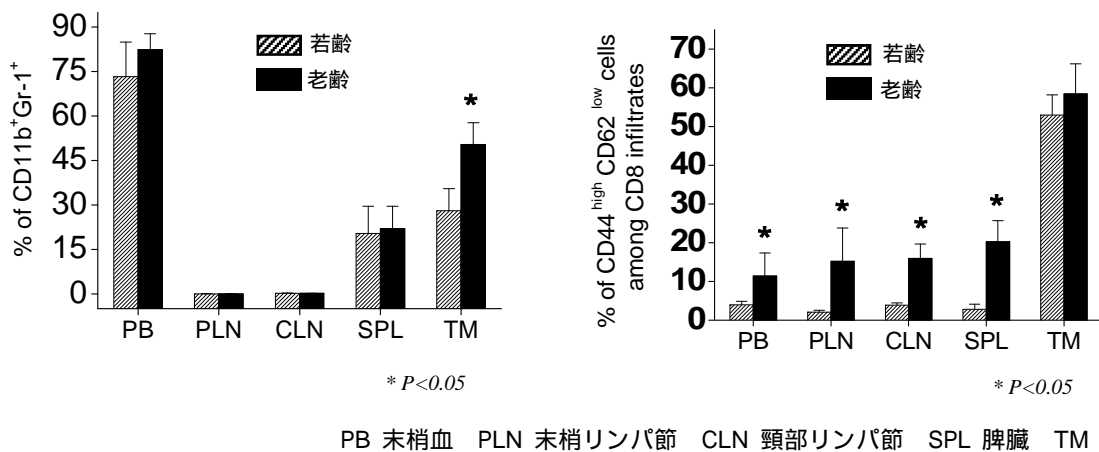
老齢担癌宿主における MDSC の形質や機能の特性を検証し、その標的化を検証。

17 月齢の老齢 NR-S1K 担癌マウスとコントロールとして 8 週齢の若年担癌マウスより腫瘍組織、脾臓、リンパ節、末梢血を採取し、それぞれの臓器における CD11b、Gr-1 陽性細胞をフローサイトメトリーで解析を行った。

4. 研究成果

(1) 8週齢の若年マウスと17月齢の老齢マウスにおける各種免疫細胞の発現について比較検討した結果、CD4⁺T細胞の割合は、老齢マウスの末梢血、末梢リンパ節、頸部リンパ節で若齢マウスに比べて有意に減少しており、一方CD8⁺T細胞の割合は老齢マウスの末梢リンパ節、頸部リンパ節で有意に増加していた。また、それぞれのT細胞におけるメモリーT細胞の割合を評価したところ、CD4⁺T細胞においては解析した全ての臓器でCD44^{high}、CD62L^{low}の割合が老齢マウスで有意に高値を示した。一方、CD8⁺T細胞においては、CD44^{high}、CD62L^{low}の割合は、末梢血、頸部リンパ節、末梢リンパ節、脾臓で有意に高値を示した(図1)。さらに、老齢マウスおよび若齢マウスよりそれぞれ分離したT細胞における抗CD3抗体と抗CD28抗体による刺激に対する反応性について解析したところ、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞のいずれにおいても、老齢マウスでは若齢マウスに比べて反応性の低下を示した(図1)。

図1



(2) MDSCをはじめとした免疫抑制性細胞の発現について解析した。CD4⁺FoxP3⁺制御性T細胞(Regulatory T cell; 以下Treg)の割合は、老齢マウスの頸部リンパ節、末梢リンパ節、脾臓、腫瘍で有意な増加を示した。CD11b⁺Gr-1⁺細胞の割合は、老齢マウスの腫瘍組織で有意な増加を示した(図1)。CD206⁺F4/80⁺腫瘍関連マクロファージ(Tumor-associated macrophage; 以下TAM)の割合は、いずれの臓器においても老齢マウスと若齢マウスで有意な差異を認めなかった。

以上の結果、口腔癌担癌宿主の加齢変化に伴う免疫抑制においては、メモリーT細胞の増加とそれに伴うT細胞免疫応答の減弱、さらに免疫抑制性細胞の増加がその一端を担っている可能性が示唆された。すなわち、担癌宿主における免疫抑制性細胞であるMDSCの標的化は、効果的な抗腫瘍免疫応答の誘導において重要であり、その標的化として、PD-L1が有力な候補となり得る可能性が示された。また、免疫老化にともなうPD-1やCTLA-4など免疫チェックポイント分子の発現増強も、老齢の担癌宿主における免疫逃避の要因の一つである。免疫抑制性細胞の標的化と免疫老化に伴う免疫抑制状態の解除は、効果的な癌免疫療法の開発にとって重要と考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sekido Katsuhisa, Tomihara Kei, Tachinami Hidetake, Heshiki Wataru, Sakurai Kotaro, Moniruzzaman Rohan, Imaue Shuichi, Fujiwara Kumiko, Noguchi Makoto	4. 巻 99
2. 論文標題 Alterations in composition of immune cells and impairment of anti-tumor immune response in aged oral cancer-bearing mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 104462 ~ 104462
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2019.104462	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 Sakurai Kotaro, Tomihara Kei, Yamazaki Manabu, Heshiki Wataru, Moniruzzaman Rohan, Sekido Katsuhisa, Tachinami Hidetake, Ikeda Atsushi, Imaue Shuichi, Fujiwara Kumiko, Noguchi Makoto	4. 巻 26
2. 論文標題 CD36 expression on oral squamous cell carcinoma cells correlates with enhanced proliferation and migratory activity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oral Diseases	6. 最初と最後の頁 745 ~ 755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/odi.13210	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 Akyu (Takei) Rie, Tomihara Kei, Yamazaki Manabu, Moniruzzaman Rohan, Heshiki Wataru, Sekido Katsuhisa, Tachinami Hidetake, Sakurai Kotaro, Yonesi Amirmoezz, Imaue Shuichi, Fujiwara Kumiko, Noguchi Makoto	4. 巻 132
2. 論文標題 Protumor role of estrogen receptor expression in oral squamous cell carcinoma cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 549 ~ 565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oooo.2021.04.006	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tachinami H, Tomihara K, Noguchi M
2. 発表標題 Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictable biomarker for response to nivolumab in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 The 78th J Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石戸克尚、富原 圭、平識 亘、櫻井航太郎、野口 誠
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌における骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) の破骨細胞分化との関連
3. 学会等名 第73回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 石戸克尚、立浪秀剛、櫻井航太郎、平識 亘、富原 圭、野口 誠
2. 発表標題 老齡口腔癌マウスを用いた免疫細胞および抗腫瘍免疫応答に関する研究
3. 学会等名 第64回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tomihara K
2. 発表標題 Clinical efficacy and safety of immunotherapy using checkpoint inhibitor in advanced oral cancer.
3. 学会等名 9th Nepal-Japan Joint Scientific Meeting of Oral and Maxillofacial Surgeons (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立浪秀剛、西井 直人、加島 義久、富原 圭、野口 誠、東 みゆき
2. 発表標題 腫瘍に集積するミエロイド系細胞の違いはPD-L1阻害剤との併用免疫療法効果に影響を与える
3. 学会等名 第73回日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tachinami H, Tomihara K, Noguchi M
2. 発表標題 Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a predictable biomarker for response to nivolumab in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 The 78th J Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2019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	山崎 学 (Yamazaki Manabu) (10547516)	新潟大学・医歯学系・講師 (13101)	
研究分担者	野口 誠 (Noguchi Makoto) (50208328)	富山大学・学術研究部医学系・教授 (13201)	

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
---------	---------