

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：32703

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19154

研究課題名（和文）蛍光標識抗Robo1抗体イムノトキシンの光化学内在化法による頭頸部癌新規治療開発

研究課題名（英文）Development of a novel treatment for head and neck cancer by photochemical internalization of fluorescently labeled anti-Robo1 antibody immunotoxin

研究代表者

小松 紀子（Komatsu, Noriko）

神奈川歯科大学・歯学部・講師

研究者番号：10644106

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：頭頸部癌新規治療法の開発において、新規治療標的因子の開発に携わる中で、限られた発現量の標的（細胞膜貫通型受容体であるRobo（Roundabout homolog）1）に対して、特異的で効率的な治療法の検討を行ってきた。標的への特異性が高い抗体にトキシンを結合させたイムノトキシン（Immunotoxin：IT）と光線力学療法（PDT；Photodynamic Therapy）を組み合わせることで、PDTが薬剤送達効果としてエンドソームからのendosomal escapeを促進し、特異的で、相乗的な細胞傷害効果をもたらすことを明らかにした。我々は、この手法をiTAP法と命名した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iTAP法を、発現量が少ないために開発が断念されていた様々な標的因子、既存の抗体医薬への応用することで、様々な領域における癌治療で効果を発揮する可能性がある。現在は頭頸部癌治療でひろく用いられているEGFRを標的としたiTAP法についても検討し、EGFR発現が高・中程度の細胞株で高い細胞傷害効果を確認した。

研究成果の概要（英文）：In the development of new treatments for head and neck cancer, we have been investigating specific and efficient treatments for a target with limited expression (Robo (Roundabout homolog) 1, a transmembrane receptor). By immunotoxin (IT), a toxin conjugated to an antibody with high specificity for the target, with photodynamic therapy (PDT), we have found that PDT promotes endosomal escape from endosomes as a drug delivery effect, resulting in a specific and synergistic cytotoxic effect. We named this method the iTAP method.

研究分野：口腔癌

キーワード：イムノトキシン 光線力学療法 光化学的内在化法 近赤外線 iTAP法 Robo1 頭頸部癌 EGFR

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は世界で6番目に多い癌であり、その9割以上がSCCである[Ferlay, J. et al, Int. J. Cancer, 2010, 127, 2893-2917]。従来の標準治療による機能障害は大きな問題となっており、機能障害が少なく治療効果の高い新規治療法が期待されている。その1つとして抗体医薬を用いた治療は増加傾向にあり、近年、セツキシマブや、まさにブレイクスルーとなった免疫チェックポイント阻害剤のニボルマブといった抗体医薬の適応が頭頸部領域にも拡大し、期待が高まっている。一方で、抗体医薬は抗原の高い発現量が必須であり、標的因子の中で実際に治療標的となる因子は限られる。また、抗体医薬では高額な医療費が問題点として挙げられ、抗体医薬の投与量が比較的少ない量で高い治療効果を発揮する手法についても検討されてきた。申請者らが標的因子として注目するRobo1は、ショウジョウバエの神経系の発生において軸索ガイダンスにかかわるタンパク質として同定され、ヒトでは胎児脳に高発現するが、成人組織にはほとんど存在しない。多領域(肝臓、大腸、乳房、膵臓、食道、肺など)の癌での発現や、血管新生への関与[Enomoto S. et al, BBRC, 2016, 469(4): 797-802]から、癌の新規治療標的因子として期待される[Ito H, et al. Clin Cancer Res. 2010, 12:3257-3264]。しかし、Robo1を標的とした臨床の前段階であるトランスレーショナルリサーチ(Translational Research, TR)の役割を担う研究は無く、その役割を担う本研究は、意義があると考えられる。

2. 研究の目的

本研究は、HNSCCにおけるRobo1を新規治療標的因子とした、抗Robo1抗体イムノトキシン(IT-Robo1)および内在化促進法の検討として、新規蛍光標識IT-Robo1を創出し、治療効果が高く、副作用が少ない頭頸部癌新規治療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

本研究は、前述したこれまでの研究でIT-Robo1に光増感剤を用いたPDT併用の手法を基盤とし、癌細胞傷害効果およびその特異性を高めるため、IT-Robo1に岡本教授らが独自に開発を行った励起波長700nmの蛍光物質を結合させた蛍光標識IT-Robo1によるPDTの細胞傷害効果をin vitro、in vivoで以下の(1)(2)について検証し、controlと比較した蛍光標識IT-Robo1の有効性、また、これまでの研究のIT-Robo1に光増感剤を用いたPDT併用と比較した蛍光標識IT-Robo1有効性を明らかにする。

(1) 蛍光標識IT-Robo1の開発、HNSCC細胞株のEGFR発現解析

IT-Cmabは、研究4と同様に過ヨウ素酸法を用いて作製し、活性化チェックを行う。HNSCC細胞株(SAS, HSQ-89, HO-1-u-1, Sa3)のEGFR発現量はqRT-PCRにてmRNA量測定を行う。

(2) 光化学的内在化法の開発

HNSCC細胞株における蛍光標識IT-Robo1の細胞傷害効果の検証

先行研究で明らかにしたIT-Cmabの試適濃度、PS1の試適濃度、LED照射法や照射量を参考に行う。本研究は、96穴プレートにてHNSCC細胞株でIT-Cmab+PDT(PS1, 775nm)の細胞傷害効果を検証する。臨床においては、HNSCCでは、Cmabの使用に際してEGFR発現量と治療効果に相関がなく、EGFR発現量を考慮しない。そのため、(1)でEGFRの発現量を検証した4種類全てのHNSCC細胞株におけるIT-Cmab+PDTによる細胞傷害効果の検証を行い、EGFR発現量と細胞傷害効果の関連性について検討する。

ゼノグラフトマウスにおける蛍光標識IT-Robo1の抗腫瘍効果の検証

最も高い細胞傷害効果が得られた細胞株のゼノグラフトマウスを作製する。これまでの研究で確立したゼノグラフトマウスの系を用いる。同様に、先行研究で明らかにした各試適濃度、LED照射法・量を参考に、in vivoにおけるIT-Cmab, PS1の条件検討を行い、HNSCCゼノグラフトマウスにおけるIT-Cmab+PDT(PS1, 775nm)の抗腫瘍効果を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 蛍光標識IT-Robo1の開発、HNSCC細胞株のEGFR発現解析

Robo1を新規治療標的因子として用いるのは発現量から困難であること、既に臨床応用されているEGFRを標的としたセツキシマブ(Cmab)を用いたIT(IT-Cmab)を作製し、東京大学工学部岡本 晃充 教授らが独自に開発を行った、蛍光量子効率の高い励起波長700nmの蛍光物質(PS1)によるPDTの組み合わせた新規治療の臨床応用の可能性を検証することとした。また、ITに蛍光物質を蛍光標識すると、標識できる蛍光物質の数が限られ、細胞傷害効果が限定的であったことから、途中より蛍光物質は標識せずに併用することとした。

EGFRの発現解析では、タンパクおよびmRNA共にSa3>HO-1-u-1, SAS>>HSQ-89の順に発現を示した。

(2) 光化学的内在化法の開発

HNSCC 細胞株における蛍光標識 IT-Robo1 の細胞傷害効果の検証

Cmab と比較して IT-Cmab による有意な細胞傷害効果を認めなかった。しかし、IT-Cmab に PDT を併用した iTAP 法によって、EGFR 発現が高・中等度の細胞 (Sa3, HO-1-u-1) で細胞傷害効果増強を認めた。一方、EGFR 発現が中程度の細胞 SAS は iTAP 法による細胞傷害効果の増強を認めなかった。EGFR をノックアウトした際の細胞生存率が SAS では低く、HO-1-u-1 では高いことが報告されており、iTAP 法が有効かどうか影響している可能性が考えられる。

ゼノグラフトマウスにおける蛍光標識 IT-Robo1 の抗腫瘍効果の検証

現在、iTAP 法による細胞傷害効果の増強を認めた Sa3, HO-1-u-1 で、in vivo による抗腫瘍効果の検討を進めているところである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Komatsu Noriko, Komatsu Miku, Ohashi Riuko, Horii Akira, Hoshi Kazuto, Takato Tsuyoshi, Abe Takahiro, Hamakubo Takao	4. 巻 2020
2. 論文標題 Saponin Facilitates Anti-Robo1 Immunotoxin Cytotoxic Effects on Maxillary Sinus Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/9593516	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 KOMATSU NORIKO, KOMATSU MIKU, OHASHI RIUKO, HORII AKIRA, HOSHI KAZUTO, TAKATO TSUYOSHI, ABE TAKAHIRO, HAMAKUBO TAKAO	4. 巻 40
2. 論文標題 Photosensitizer With Illumination Enhances In Vivo Antitumor Effect of Anti-ROB01 Immunotoxin on Maxillary Sinus Squamous Cell Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3793~3799
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.14368	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 小松紀子, 里見貴史, 安部貴大, 近津大地, 星和人, 高戸毅, 喜久田利弘, 福田仁一	4. 巻 32
2. 論文標題 本邦の口腔領域に生じるメトトレキサート関連リンパ増殖性疾患に関する文献的検討.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hospital Dentistry & Oral-Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 -
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 小松紀子, 福田仁一, 星和人, 喜久田利弘	4. 巻 32
2. 論文標題 高齢者の口腔癌に対するサイバーナイフ治療の効果と有害事象の検討.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Hospital Dentistry & Oral-Maxillofacial Surgery	6. 最初と最後の頁 -
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 安部貴大, 藤原夕子, 小関珠理亜, 川上大, 小松紀子, 阿部雅修, 小笠原徹, 西條英人, 星和人	4. 巻 14
2. 論文標題 当院の骨修飾薬投与患者における医科歯科連携の現状と薬剤関連顎骨壊死発症に関するコホート調査.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口腔ケア学会雑誌,	6. 最初と最後の頁 26-32
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 小松紀子, 柏木美樹, 阿部雅修, 安部貴大, 星和人.	4. 巻 33
2. 論文標題 頬粘膜部に発生した周辺性エナメル上皮腫の1例.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口腔診断学会雑誌,	6. 最初と最後の頁 34-38
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 小松紀子, 安部貴大, 谷口明紗子, 阿部雅修, 星 和人.	4. 巻 66
2. 論文標題 軟口蓋に発生した血管周囲類上皮細胞腫瘍の1例.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口腔外科学会雑誌,	6. 最初と最後の頁 371-375
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 宮本祥行, 久保田恵吾, 中村和貴, 小松紀子, 安部貴大, 星和人.	4. 巻 66
2. 論文標題 上顎骨に腫瘍形成を認めたエルドハイムチェスター病の1例.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本口腔外科学会雑誌,	6. 最初と最後の頁 637-643
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 中村和貴, 小松紀子, 成田理香, 久保田恵吾, 西條英人, 星 和人.	4. 巻 29
2. 論文標題 重度口腔粘膜炎が原因でペムプロリズマブによる加療の中止を余儀なくされた1例.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本有病者歯科医療学会雑誌.	6. 最初と最後の頁 -
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 Noriko Komatsu, Miku Komatsu, Riuko Ohashi, Akira Horii, Kazuto Hoshi, Tsuyoshi Takato, Takahiro Abe, Takao Hamakubo	4. 巻 -
2. 論文標題 Saponin facilitates anti-Robo1 immunotoxin cytotoxic effects on maxillary sinus squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1155/2020/9593516	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 該当する

1. 著者名 Noriko Komatsu, Azuma Kosai, Mikako Kuroda, Takao Hamakubo, Takahiro Abe	4. 巻 12
2. 論文標題 Cetuximab-Toxin Conjugate and NPe6 with Light Enhanced Cytotoxic Effects in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma In Vitro	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines12050973	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20件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小松紀子, 黒田実可子, 高才東, 星和人, 浜窪隆雄, 岡本晃充, 安部貴大
2. 発表標題 トキシン結合型セツキシマブと光線力学療法の併用は頭頸部扁平上皮癌トキシン結合型セツキシマブと光線力学療法の併用は頭頸部扁平上皮癌細胞株に対して抗腫瘍効果を高めるか. 細胞株に対して抗腫瘍効果を高めるか.
3. 学会等名 第77回NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小松紀子, 黒田実可子, 高才東, 星和人, 岡本晃充, 浜窪隆雄, 安部貴大
2. 発表標題 トキシシン結合型セツキシマブと光線力学療法との併用による低侵襲新規治療法の可能性について.
3. 学会等名 第1回日本低侵襲口腔がん治療学会総会・学術集会,
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小松紀子, 黒田実可子, 高才東, 星和人, 浜窪隆雄, 岡本晃充, 安部貴大
2. 発表標題 トキシシン結合型セツキシマブと光線力学療法との併用による抗腫瘍効果の検討.
3. 学会等名 第47回日本頭頸部癌学会第47回日本頭頸部癌学会総会・学術講演会総会・学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 高才 東, 小松 紀子, 原田 隆文, 黒田 実可子, 安部 貴大
2. 発表標題 開口障害を呈したSAPHO症候群と思われる1例.
3. 学会等名 第36回日本顎関節学会総会・学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 黒田実可子, 小松紀子, 高才東, 浜窪隆雄, 安部貴大
2. 発表標題 トキシシン結合型セツキシマブと光線力学療法による頭頸部扁平上皮癌治療の探索的検討.
3. 学会等名 第42回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 小松紀子, 黒田実可子, 高才東, 沢井奈津子, 窪田展久, 安部貴大
2. 発表標題 下顎歯肉孔道癌の1例
3. 学会等名 第41回口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Abe T, Komatsu N, Kosai A, Hamakubo T.
2. 発表標題 New strategy of head and neck squamous cell carcinoma therapy by antibody drug conjugate combined with photochemical internalization: Intelligent Targeted Antibody Phototherapy (iTAP).
3. 学会等名 ACOMS (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazutaka Nakamura, Keigo Kubota, Noriko Komatsu, Ayuko Sakakibara, Noriko Komatsu, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi.
2. 発表標題 A case of infective endocarditis associated with asymptomatic bilateral semi-impacted mandibular wisdom teeth.
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazutaka Nakamura, Noriko Komatsu, Miki Kashiwagi, Keigo Kubota, Kazumichi Yonenaga, Tsuyoshi Takato, Yoshiyuki Yonehara, Masanobu Abe, Takahiro Abe, Kazuto Hoshi.
2. 発表標題 A case in which chemoradiotherapy was performed for ameloblastic carcinoma with attention to oral adverse events.
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Aiko Kurosaka, Noriko Komatsu, Kazutaka Nakamura, Yoko Uchida, Yuko Fujihara, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi
2. 発表標題	Lymphoplasmacytic Lymphoma/Waldenström's Macroglobulinemia in a Patient with Poor Oral Hygiene: A Case Report
3. 学会等名	The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Ayuko Sakakibara, Noriko Komatsu, Kana Koda, Kazutaka Nakamura, Yuuko Fujihara, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi.
2. 発表標題	A case of pemphigus vulgaris diagnosed by tongue biopsy and improved by steroid pulse therapy and oral care
3. 学会等名	The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	高才東、沢井奈津子、生駒丈晴、原田隆史、田中香衣、小松紀子、岩淵博史、安部貴大
2. 発表標題	脂肪肉腫が疑われ診断に苦慮した脂肪腫の一例 A case of lipoma suspected of liposarcoma
3. 学会等名	第40回口腔腫瘍学会・学術集会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	中村和貴, 小松紀子, 福田初, 内山貴夫, 成田理香, 久保田恵吾, 谷口明紗子, 藤原夕子, 杉山円, 西條英人.
2. 発表標題	抗PD-1抗体投与中に重度口腔粘膜炎を発症した1例
3. 学会等名	第29回日本有病者歯科医療学会学術大会,
4. 発表年	2020年

1. 発表者名 福田初, 杉山円, 中村和貴, 内山貴夫, 小松紀子, 谷口明紗子, 藤原夕子, 西條英人.
2. 発表標題 舌外傷を来たし認知症が疑われた独居高齢者の1例
3. 学会等名 第29回日本有病者歯科医療学会学術大会,
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小島哲也, 石橋牧子, 三輪友美, 成田凜太郎, 佐竹杏奈, 内田洋子, 小松紀子, 藤原夕子, 安部貴大, 阿部雅修, 星和人.
2. 発表標題 上顎癌半側切除術後にマスク換気により生じた縦隔気腫の1例
3. 学会等名 第54回日本口腔科学会関東地方部会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 中村和貴, 小松紀子, 石橋牧子, 阿部雅修, 安部貴大, 星和人.
2. 発表標題 重篤な全身疾患を有する口腔癌患者に対し、合併症の予防に留意した周術期管理により治療を完遂した1例:
3. 学会等名 第54回日本口腔科学会関東地方部会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazutaka Nakamura, Keigo Kubota, Noriko Komatsu, Ayuko Sakakibara, Noriko Komatsu, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi.
2. 発表標題 A case of infective endocarditis associated with asymptomatic bilateral semi-impacted mandibular wisdom teeth.
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kazutaka Nakamura, Noriko Komatsu, Miki Kashiwagi, Keigo Kubota, Kazumichi Yonenaga, Tsuyoshi Takato, Yoshiyuki Yonehara, Masanobu Abe, Takahiro Abe, Kazuto Hoshi.
2. 発表標題 A case in which chemoradiotherapy was performed for ameloblastic carcinoma with attention to oral adverse events.
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Aiko Kurosaka, Noriko Komatsu, Kazutaka Nakamura, Yoko Uchida, Yuko Fujihara, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi
2. 発表標題 Lymphoplasmacytic Lymphoma/Waldenstrom's Macroglobulinemia in a Patient with Poor Oral Hygiene: A Case Report
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ayuko Sakakibara, Noriko Komatsu, Kana Koda, Kazutaka Nakamura, Yuuko Fujihara, Masanobu Abe, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi
2. 発表標題 A case of pemphigus vulgaris diagnosed by tongue biopsy and improved by steroid pulse therapy and oral care
3. 学会等名 The 1st annual meeting of the international of society of oral care
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Noriko Komatsu, Takahiro Abe, Rena Shirai, Asako Taniguchi, Masanobu Abe, Kazuto Hoshi.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本口腔科学会	5. 総ページ数 -
3. 書名 A case of perivascular epithelioid cell tumor of the palatine mucosa(Secondary publication)	

1. 著者名 Kazutaka Nakamura, Noriko Komatsu, Rika Narita, Keigo Kubota, Hideto Saijo, Kazuto Hoshi.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本口腔科学会	5. 総ページ数 -
3. 書名 A case of forced discontinuation of pembrolizumab due to severe oral mucositis.(Secondary publication)	

1. 著者名 Yoshiyuki Miyamoto, Keigo Kubota, Kazutaka Nakamura, Noriko Komatsu, Takahiro Abe, Kazuto Hoshi.	4. 発行年 2021年
2. 出版社 日本口腔科学会	5. 総ページ数 -
3. 書名 A case of the Erdeheim-Chester disease related tumor of the maxilla.(Secondary publication)	

〔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
---------	---------