

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09706

研究課題名(和文) イムノメタボリズムを標的とした頭頸部がん治療戦略の構築

研究課題名(英文) Immunometabolism-targeted cancer therapy in HNSCC

研究代表者

石井 裕貴 (Ishii, Hiroki)

山梨大学・大学院総合研究部・講師

研究者番号：40568250

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)：進行頭頸部がん患者においてmyeloid derived suppressor cells (MDSCs)が作り出す免疫抑制環境が治療効果を減弱させていることがわかっており、今回MDSDで起こる特徴的な代謝変化を標的とした新規治療戦略を模索した。進行中咽頭癌患者18名の腫瘍組織浸潤MDSCのシングルセルRNAシーケンス解析において治療標的となる代謝関連遺伝子の変化は同定できなかったが低用量タキサン系抗がん剤により、腫瘍細胞内で酸化的リン酸化経路関連遺伝子及び代謝産物の増加が確認され、ATPを介した免疫誘導に注目した複合的免疫化学療法への応用の可能性が確認できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究を通して、直接的に抗腫瘍免疫を抑制する免疫抑制細胞の代謝変化を標的とした因子を同定することはできなかったが、低用量の抗がん剤併用が免疫誘導因子の一つであるATPを腫瘍細胞内に誘導できることを確認した。低用量抗がん剤の毒性の低さに加えて、微小環境内に免疫細胞を誘導する細胞死を誘導できるため、現在の免疫チェックポイント阻害剤の効果を減弱させる機序として判明している、免疫細胞の排除機構を改善を目標とした治療戦略に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Immunosuppressive microenvironment in advanced head and neck cancer patient clinically arises myeloid derived suppressor cells (MDSCs)-mediated attenuation of therapeutic efficacy. To establish novel therapeutic strategies targeting the metabolic reprogramming occur in MDSDs. Single-cell RNA sequencing of tumor-infiltrating MDSCs from 18 patients with advanced oropharyngeal carcinoma did not show any targets associated with metabolic reprogramming. However, low-dose paclitaxel enabled to increase oxidative phosphorylation pathway in HNSCC tumor cells, suggesting that it is possible to induce ATP-mediated immunogenic cell death. These findings imply the possibility of combined chemoimmunotherapy.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：MDSCs 免疫原性細胞死 ATP パクリタキセル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

炎症性がん微小環境に遊走されてくる免疫抑制細胞の中で、MDSCs は非常に強固な免疫抑制能を持ち、進行頭頸部がん患者でその数の有意な増加が確認され、頭頸部がんにおいて MDSCs 増加は予後不良因子と認識されている [Weed TD. *Et al. Clin Cancer Res.* 2015. 21:39-48]。特に免疫チェックポイント阻害剤へ抵抗性を示す non-responder においても MDSCs 分画の増加が確認されており、MDSCs が作り出す強固な免疫抑制環境が治療効果を減弱させていることが示唆されている [Weber R. *et al. Front Immunol.* 2018. 9:1310]。腫瘍組織内に存在する MDSCs を治療標的として、その数を減らしたり機能的なリプログラミングを起こして免疫抑制能を直接弱めたりできれば、頭頸部がん患者の予後の改善を十分期待できるが免疫療法の効果をより改善させるための複合的な治療戦略に関連する研究は進んでいない状況である。

腫瘍細胞や免疫抑制細胞の機能獲得過程において代謝リプログラミングが非常に深く関与していることがわかっているが、MDSCs の分化過程や免疫抑制能獲得過程に影響を与えるイムノメタボリズムを標的とした新規治療戦略を模索するような包括的な研究もほとんどない状況である。

2. 研究の目的

本研究では、イムのメタボリズムを標的とした治療戦略を構築するためにまず以下の3つの目的を置いた。

- 1) 頭頸部癌患者における免疫抑制を誘導に大きく影響する炎症性微小環境内の myeloid derived suppressor cells (MDSCs) のサブセット (CD14⁻CD15⁺CD11b⁺顆粒球系分画、CD14⁺HLA-DR^{-/low}CD11b⁺単球系分画) および制御性 T 細胞に注目し、がん悪性形質 (頸部リンパ節転移) の獲得環境における代謝関連遺伝子プロファイルの変化の解明
- 2) 抗腫瘍免疫誘導に影響する免疫原性細胞死の過程における頭頸部癌の代謝変化の解明

3. 研究の方法

進行頭頸部癌患者より末梢血および腫瘍組織における myeloid derived suppressor cells (MDSCs) のサブセット (CD14⁻CD15⁺CD11b⁺顆粒球系分画、CD14⁺HLA-DR^{-/low}CD11b⁺単球系分画) のソーティングを MACS システムにて行い、トランスクリプトーム解析及びメタボローム解析を行うこととしたが COVID-19 感染流行の影響により、被験者がほとんど集まらず採血および生検同意が得られなかった。そのため利用可能な公共データベース (GSE164690) より、進行中咽頭癌 18 人より採取された腫瘍内 CD45 陽性細胞を対象としたシングルセルトランスクリプトームデータを取得し、Cell ranger を用いてデータ再解析し MDSC 各サブセットの代謝関連遺伝子プロファイルと頸部リンパ節転移との相関を解析した。

さらに頭頸部扁平上皮癌細胞株 SAS 細胞を用いて QuantSeq 3' mRNA-seq および液体クロマトグラフィー-トリプル四重極方質量分析装置にて免疫原性細胞死の過程で変化してくる遺伝子プロファイル及びメタボロームの変化を解析し、治療戦略になりうる因子の探索を行った。

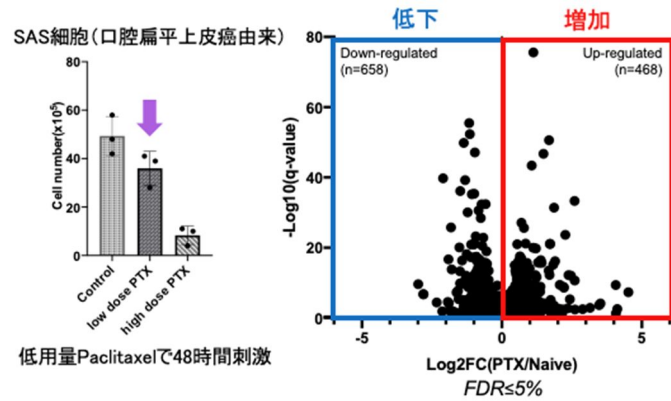
4. 研究成果

頸部リンパ節転移(-)患者 (n=8)と 頸部リンパ節転移(+)患者 (n=10)の腫瘍内CD 45陽性免疫細胞のシングルセルRNA-seq解析を行った。CD14⁺HLA-DR⁺mMDSC、CD14⁻CD15⁺gMDSCの分画それぞれにおいて解糖系経路、酸化的リン酸化経路及び脂質代謝経路に関わる遺伝子発現の比較を行ったものの、mMDSCやgMDSCの分画において頸部リンパ節転移の有無やinflammation status(Cold or Hot)で有意な変化は確認できなかった。この結果からはMDSCの代謝経路を標的とした治療戦略の構

築は非常にチャレンジングであることが示唆された。

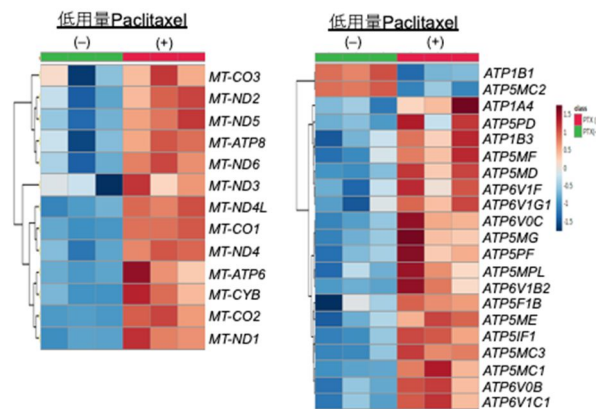
続いて微小環境内での腫瘍細胞の免疫誘導に關与する代謝変化を解析した。まず抗がん剤の種類によって免疫原性細胞死を起こし、微小環境内で炎症に關与する免疫を誘導できることがわかっており、頭頸部扁平上皮癌細胞株SAS細胞を用いて、免疫原性細胞死を誘導できるPaclitaxelを用いて48時間刺激後にtotal RNAを抽出し刺激前後で変化している遺伝子を同定した。

Control群に比べて低用量Paclitaxel刺激で発現上昇した遺伝子は468種類、発現低下した遺伝子は658種類同定できた(図1)。



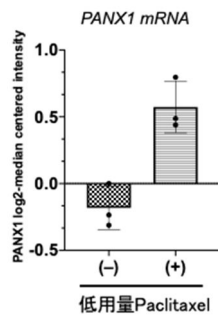
(図1)

このプロファイル変化から免疫原性細胞死に關与するパスウェイを解析したところ低用量Paclitaxel刺激によりIL-1サイトカインファミリーの上昇が確認でき、酸化的リン酸化経路によるATP産生に關連する遺伝子が増加していた(図2)。



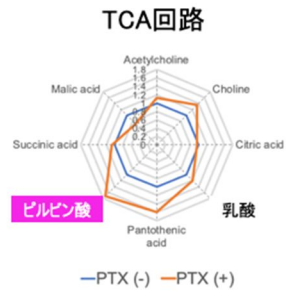
(図2)

さらにATPを細胞外へ放出するチャンネルをコードするPANX1遺伝子も有意に変化していた(図3)。以上の結果からlow dose PTXは頭頸部癌細胞においてATP産生を増加させ、免疫原性細胞死を誘導できる可能性が示唆された。

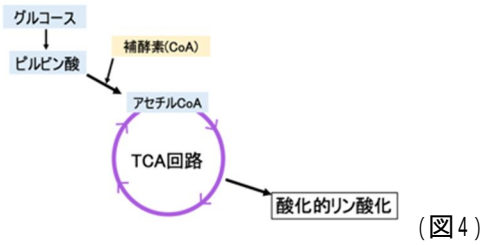


(図3)

続いて低用量Paclitaxelで48時間刺激したSAS細胞のメタボローム解析ではTCA回路に關する1次代謝産物が増加しており、前述した酸化的リン酸化を回すために必要な代謝経路が活性化していることがわかった(図4)。



酸化的リン酸化を使うにはTCA回路を回す必要あり



以上から Paclitaxel 刺激により頭頸部癌細胞では ATP をより多く産生・放出する酸化的リン酸化経路
 できることわかり、低用量パクリタキセルが免疫原性細胞死を誘導できる ATP 産生を頭頸部癌で誘導で
 きるエビデンスを示すことができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 1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 Yamaguchi Yohei, Odate Toru, Nakazawa Kumiko, Oishi Naoki, Mochizuki Kunio, Shimizu Tatsuya, Horiuchi Kiwako, Ishii Hiroki, Sakurai Daiju, Kondo Tetsuo	4. 巻 50
2. 論文標題 A rare case of intracytoplasmic mucin rich nasopharyngeal carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostic Cytopathology	6. 最初と最後の頁 151-155
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dc.24934	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 Sakamoto Kaname, Endo Kaori, Sakamoto Kei, Kayamori Kou, Ehata Shogo, Ichikawa Jiro, Ando Takashi, Nakamura Ryosuke, Kimura Yujiro, Yoshizawa Kunio, Masuyama Keisuke, Kawataki Tomoyuki, Miyake Kunio, Ishii Hiroki, Kawasaki Tomonori, Miyazawa Keiji, Saitoh Masao	4. 巻 10
2. 論文標題 EHF suppresses cancer progression by inhibiting ETS1-mediated ZEB expression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncogenesis	6. 最初と最後の頁 26
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41389-021-00313-2	査読の有無 無
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 So Jae Young, Yang Howard H., Park Woo Yong, Skrypek Nicolas, Ishii Hiroki, Chen Jennifer M., Lee Maxwell P., Yang Li	4. 巻 20
2. 論文標題 DNA Methyltransferase 3B?Mediated Intratumoral Heterogeneity and Therapeutic Targeting in Breast Cancer Recurrence and Metastasis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Cancer Research	6. 最初と最後の頁 1674 ~ 1685
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-21-0887	査読の有無 無
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 Kinouchi Arisa, Ishii Hiroki, Sakamoto Kaname, Sakurai Daiju	4. 巻 10
2. 論文標題 Successful desensitization after hypersensitivity reaction to cisplatin in a patient with nasopharyngeal carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 e6444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.6444	査読の有無 無
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 Ishii Hiroki, Tsujikawa Takahiro, Oishi Naoki, Kinouchi Arisa, Sakamoto Kaname, Mitsuda Junichi, Ogi Hiroshi, Itoh Kyoko, Kondo Tetsuo, Hirano Shigeru, Sakurai Daiju	4. 巻 10
2. 論文標題 Genomic and immune microenvironment profiling in a case of metastatic intrathyroid thymic carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical Case Reports	6. 最初と最後の頁 e6050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ccr3.6050	査読の有無 無
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 Kimura Yujiro, Yoshizawa Kunio, Hotta Osada Asami, Moroi Akinori, Ishii Hiroki, Sakurai Daiju, Saitoh Masao, Oishi Naoki, Kondo Tetsuo, Ueki Koichiro	4. 巻 8
2. 論文標題 High expression of protein tyrosine kinase 7 in oral squamous cell carcinoma: Clinicopathological correlation and prognosis relevance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Clinical and Experimental Dental Research	6. 最初と最後の頁 506 ~ 512
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cre2.553	査読の有無 無
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 Ishii Hiroki, Park Woo Yong, So Jaeyoung, Kuhn Skyler, Koparde Vishal N., Pang Yanli, Greten Tim F., Hollander M. Christine, Yang Li	4. 巻 59
2. 論文標題 Loss of myeloid specific lamin A/C drives lung metastasis through Gfi 1 and C/EBP mediated granulocytic differentiation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Carcinogenesis	6. 最初と最後の頁 679 ~ 690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mc.23147	査読の有無 無
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 Yoshizawa Kunio, Kimura Yujiro, Moroi Akinori, Ishii Hiroki, Sakurai Daiju, Saitoh Masao, Oishi Naoki, Kondo Tetsuo, Toyoura Masahiro, Ueki Koichiro	4. 巻 134
2. 論文標題 Loss of intercellular bridges in the depth of invasion measurement area is a novel negative prognostic factor for oral squamous cell carcinoma: A retrospective study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology	6. 最初と最後の頁 84 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oooo.2022.02.017	査読の有無 無
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 So Jae Young, Skrypek Nicolas, Yang Howard H., Merchant Anand S., Nelson George W., Chen Wei-Dong, Ishii Hiroki, Chen Jennifer M., Hu Gangqing, Achyut Bhagelu R., Yoon Esther C., Han Liying, Huang Chuanshu, Cam Margaret C., Zhao Keji, Lee Maxwell P., Yang Li	4. 巻 80
2. 論文標題 Induction of DNMT3B by PGE2 and IL6 at Distant Metastatic Sites Promotes Epigenetic Modification and Breast Cancer Colonization	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 2612 ~ 2627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-3339	査読の有無 無
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 Ishii Hiroki, Saitoh Masao, Sakamoto Kaname, Sakamoto Kei, Saigusa Daisuke, Kasai Hirotake, Ashizawa Kei, Miyazawa Keiji, Takeda Sen, Masuyama Keisuke, Yoshimura Kentaro	4. 巻 122
2. 論文標題 Lipidome-based rapid diagnosis with machine learning for detection of TGF- signalling activated area in head and neck cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 995 ~ 1004
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-020-0732-y	査読の有無 無
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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 石井裕貴
2. 発表標題 タキサン系抗がん剤による免疫修飾から考える新たな頭頸部癌治療戦略
3. 学会等名 第46回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2022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	櫻井 大樹 (Sakurai Daiju) (10375636)	山梨大学・大学院総合研究部・教授 (13501)	

6. 研究組織（つづき）

	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	吉村 健太郎 (Yoshimura Kentaro) (70516921)	山梨大学・大学院総合研究部・講師 (13501)	

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