

様 式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19（共通）

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K18686

研究課題名（和文）免疫学的側面から立案するレンバチニブを用いた新規口腔扁平上皮癌治療法の開発研究

研究課題名（英文）Research on development of novel oral squamous cell carcinoma treatment with lenvatinib from an immunological perspective

研究代表者

矢島 優己（Yajima, Yuki）

旭川医科大学・大学病院・医員

研究者番号：60867042

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）：マウス扁平上皮癌へのレンバチニブの抗腫瘍効果には2種間で差が見られた。治療抵抗性を示す腫瘍では「ある分子」の遺伝子発現が有意に高かった。この分子が抗腫瘍効果を左右する因子で、関連シグナル経路の最上流分子であると仮定し、研究を進めた。in vitroおよびin vivoの実験において、「ある分子」の発現強度との関連を示唆するような結果が得られた。また、「ある分子」の免疫組織化学染色を行うと腫瘍組織が高率に染色され、病理診断に有用であ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

本研究により着目した「ある分子」がさらなる研究により、口腔扁平上皮癌のバイオマーカーとして有用であることが証明されれば、口腔扁平上皮癌患者の診断や代替治療の選択、治療効果判定などへの活用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：There was a difference in the antitumor effect of lenvatinib on squamous cell carcinoma in mice between the two species. Gene expression of “a molecule” was significantly higher in tumors that were resistant to treatment. In vitro and in vivo experiments showed results suggestive of an association with the intensity of expression of “a molecule”. In addition, immunohistochemical staining of “a molecule” showed a high rate of staining of tumor tissues, suggesting that it may be useful for pathological diagnosis.

研究分野：歯科口腔外科学

キーワード：扁平上皮癌 分子標的薬 バイオマーカー

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1．研究開始当初の背景

口腔癌の治療には主に外科療法、放射線療法、がん薬物療法がある。がん薬物療法ではプラチナ製剤やタキサン系製剤、分子標的薬であるセツキシマブが使用されており、近年では抗 PD-1 抗体であるニボルマブも再発または転移を有する頭頸部癌に対し、適応となった。口腔癌治療に使用が許されている分子標的薬はセツキシマブのみと一剤に限られており、治療の選択肢が少ないのが現状である。分子標的薬であるレンバチニブがこれまで治療不可能であった甲状腺未分化癌に奏功する症例が報告されており、頭頸部癌診療の大きな進歩と考えられる。その一方で、扁平上皮癌に対する奏功例は世界的にも報告されていない。がん薬物療法適応症例で、承認されているがん薬物療法の中に有効な治療手段が存在しなかった場合、腫瘍の増大に伴う原病死は免れない。そのため、口腔扁平上皮癌に対する新たな治療法の開発は急務である。

2．研究の目的

本研究では、口腔扁平上皮癌に対する新たな治療戦略を確立することを目指しており、口腔扁平上皮癌に対するレンバチニブの腫瘍縮小効果を検討する。この結果を基にして、レンバチニブと併用することで腫瘍縮小効果の増強が得られる因子を用いた治療法を開発することで、口腔扁平上皮癌の根治を目指す。本研究で同定した因子が、現行の口腔扁平上皮癌治療の方針を一変させるキードラッグとなることが望まれる。さらに、同定した因子が分子標的薬の有効群と無効群を振り分けるバイオマーカーとしても有用可能であると予測される。

3．研究の方法

（1）マウス扁平上皮癌細胞株を用いたレンバチニブの抗腫瘍効果の検討

マウス扁平上皮癌細胞株（mSCC1、mSCC2）を BALB/c マウスに皮内移植し、7 日目からレンバチニブを自由経口摂取させ、腫瘍径を計測することで抗腫瘍効果を確認した。

（2）レンバチニブが腫瘍微小環境に及ぼす影響の評価

レンバチニブ治療を 10 日間行った後、腫瘍組織を回収し、SMA、CD31、Lyve-1 の免疫組織化学染色を行い、評価した。

（3）マウス扁平上皮癌細胞株の遺伝子発現とシグナル伝達経路の解析

網羅的遺伝子解析およびウェスタンブロッティング法を用いて、マウス扁平上皮癌細胞株で高発現している分子を同定した。その分子に関連する阻害剤を用いて、癌細胞の増殖抑制効果を *in vivo* および *in vitro* で解析した。

（4）口腔扁平上皮癌患者の臨床検体を用いた「ある分子」の発現検証および臨床病理学的特徴との関連評価

口腔扁平上皮癌患者 52 例の切除組織検体を用いて、「ある分子」の免疫組織化学染色を行い、スコアリング評価した。臨床病理学特徴との関連について、フィッシャー検定を用いて、解析した。

4．研究成果

（1）mSCC1 に対してはレンバチニブ治療で有意な抗腫瘍効果が得られた。mSCC2 では若干の抗腫瘍効果が得られたものの、mSCC1 ほどの抗腫瘍効果は得られなかった。

(2) コントロール群と比較してレンパチニブ治療群の SMA、CD31 および Lyve-1 の陽性細胞が減少していたことからレンパチニブにより腫瘍微小環境の血管新生、リンパ管新生が抑制されたことが示唆された。

(3) 網羅的遺伝子解析およびウェスタンブロットティング法による解析で、「ある分子」の発現が mSCC1 よりも mSCC2 で有意に高いことがわかった。このことから、「ある分子」を最上流分子とする Src/PI3K/AKT/mTOR シグナル経路が亢進していると想定され、レンパチニブの他に Src 阻害剤ダサチニブ、mTOR 阻害剤ラパマイシンも選択した。

mSCC1、mSCC2 を用いた in vivo、in vitro 実験では、ダサチニブ、ラパマイシンの抗腫瘍効果および感受性は、「ある分子」高発現の mSCC2 の方が、mSCC1 よりも有意に高かった。

ヒト頭頸部扁平上皮癌細胞株 (HSC2、HSC3、HSC4、CA9-22、SAS、Sa3) を用いた in vitro 実験ではレンパチニブ、ダサチニブ、ラパマイシンのそれぞれ薬剤に対する感受性に異なる傾向が見られた。

(4) 口腔扁平上皮癌患者 52 例の切除組織検体を用いて、「ある分子」の免疫組織化学染色を行ったところ、陽性率は約 90% であった。臨床病理学特徴 (性別、年齢、喫煙・飲酒歴、TNM 分類、Stage 分類) との関連について、フィッシャー検定を用いて解析したが、有意な差は認めなかった。

本研究では、同じ組織型 (扁平上皮癌) であっても、分子標的薬の抗腫瘍効果が異なる原因として、「ある分子」の関わりが示唆された。今後は「ある分子」高発現の遺伝子発現をノックダウンし、レンパチニブに対する感受性が変化するかを確認する予定である。さらに関連シグナル経路の解析や臨床検体での発現確認の数を増やすことで、口腔扁平上皮癌のバイオマーカーとしての「ある分子」の有用性を検証していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 矢島優己、大栗敬幸、小坂 朱、原渕翔平、永田真莉乃、林 隆介、長門利純、及川賢輔、竹川政範、小林博也
2. 発表標題 扁平上皮癌に対するレンパチニブと免疫治療の併用による治療効果を検討し、口腔癌治療への応用を考える
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島優己、大栗敬幸、小坂 朱、原渕翔平、永田真莉乃、林 隆介、長門利純、熊井琢美、及川賢輔、竹川政範、小林博也
2. 発表標題 マウス扁平上皮癌に対するレンパチニブと免疫チェックポイント阻害薬の併用治療は腫瘍増殖抑制効果を示す
3. 学会等名 日本がん免疫学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島優己、大栗敬幸、小坂 朱、林 隆介、永田真莉乃、安田俊輔、長門利純、及川賢輔、竹川政範、小林博也
2. 発表標題 マウス扁平上皮癌に対するレンパチニブ及び免疫チェックポイント阻害薬の治療効果の検討
3. 学会等名 北海道病理談話会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢島優己、大栗敬幸、小坂 朱、安田俊輔、永田真莉乃、林 隆介、長門利純、及川賢輔、竹川政範、小林博也
2. 発表標題 マウスモデルを用いた扁平上皮癌に対するレンパチニブの有用性の評価
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢島優己、松田真也、佐藤栄晃、荒井五織、吉田将亜、竹川政範
2. 発表標題 扁平上皮癌に対するレンパチニブの有用性を評価するためのマウスモデルの確立
3. 学会等名 日本口腔科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 矢島優己、竹川政範、松田真也、小神順也、吉田将亜、本橋征之
2. 発表標題 マウスモデル扁平上皮癌に対するレンパチニブの有用性評価に関する研究
3. 学会等名 日本口腔外科学会
4. 発表年 2021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
---------	---------