

令和 6 年 5 月 6 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K18714

研究課題名（和文）ヒトOSCCにおける抗PD-1抗体製剤の治療効果と癌幹細胞との関連に関する検討

研究課題名（英文）Investigation of the relationship between therapeutic efficacy of anti-PD-1 antibody preparations and cancer stem cells in human oral squamous cell carcinoma

研究代表者

轟 圭太（Todoroki, Keita）

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：60624434

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,600,000円

研究成果の概要（和文）：臨床病理学的検討の結果、口腔扁平上皮癌(Oral squamous cell carcinoma, 以下OSCC)におけるがん幹細胞(Cancer stem cells, 以下CSCs)は、免疫チェックポイント分子であるPD-1とそのリガンドであるPD-L1の共発現を介して、宿主の免疫機構を回避し、CSCsの幹細胞性を維持し、その結果、OSCCの好ましくない臨床転帰をもたらしていることが示唆された。すなわち、CSCsは免疫チェックポイント阻害剤の治療標的である可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床病理学的検討の結果、口腔扁平上皮癌(Oral squamous cell carcinoma, 以下OSCC)におけるがん幹細胞(Cancer stem cells, 以下CSCs)は、免疫チェックポイント分子であるPD-1とそのリガンドであるPD-L1の共発現を介して、宿主の免疫機構を回避し、CSCsの幹細胞性を維持し、その結果、OSCCの好ましくない臨床転帰をもたらしていることが示唆された。すなわち、CSCsは免疫チェックポイント阻害剤の治療標的である可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：Our clinicopathological studies suggest that cancer stem cells (CSCs) in oral squamous cell carcinoma (OSCC) evade host immune mechanisms and maintain their stemness via co-expression of the immune checkpoint molecule PD-1 and its ligand PD-L1, resulting in an unfavorable clinical outcome of OSCC. This suggests that cancer stem cells (CSCs) evade host immune mechanisms and maintain their stemness, resulting in unfavorable clinical outcomes in oral cancer. In other words, cancer stem cells may be a potential therapeutic target for immune checkpoint inhibitors.

研究分野：口腔癌におけるがん幹細胞の臨床病理学的検討

キーワード：CD44v3 CD24 PD-L1 PD-1 免疫逃避

1. 研究開始当初の背景

近年、OSCCをはじめとする固形癌の予後不良症例に関して、CSCsの存在が指摘されており、CSCsが放射線治療や薬物療法に対して治療抵抗性を示すことが報告されている。OSCCにおいては、細胞表面マーカーを用いたCSCsの同定が試みられている。具体的にはCSCマーカーの一つであるALDH陽性細胞が、陰性細胞に比べて高い腫瘍増殖能を示すことや、CD44陽性細胞がCD44陰性細胞に比べて、化学療法に対して高い薬剤耐性を示すことなどが報告されている(PLoS One : e3360, 2008.など)。申請者らは、OSCCにおいてCD44v3陽性/CD24陰性細胞集団が、CSCsの生物学的特性である自己複製能ならびに化学療法への抵抗性を有していることを報告した(International Journal of Oncology 48: 99-109, 2016.)。その研究においては、OSCCの細胞株を用いて、CDDP, 5-FU, cetuximabを対象に実験的に薬剤耐性の有無を検討し、CSCs様の細胞集団が治療抵抗性を示すことを明らかにした。

しかしその研究では、抗PD-1抗体製剤(ニボルマブ[®])については、検討対象外であった。また、OSCCにおいて、PD-1とそのリガンドであるPD-L1の発現とCSCsとの関連について検討した報告は少なく、CSCsの存在と抗PD-1抗体製剤に対する治療効果との関連については未だ不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究の目的は、OSCCにおけるCSCsのCD44v3^{high}/CD24^{low}の免疫表現型とPD-L1/PD-1共発現との関連を明らかにし、免疫チェックポイント分子の観点からCSCsの予後への影響を評価し、OSCCにおける抗PD-1抗体製剤投与患者の治療効果予測の指標を確立することである。

3. 研究の方法

具体的な研究方法としては、OSCC患者168人のホルマリン固定パラフィン包埋組織サンプルと臨床病理学的データをレトロスペクティブに検討した。各症例の浸潤先進部よりtissue microarray法により検体を採取し、検討対象の各分子、すなわちCD44v3, CD24, PD-L1とPD-1のそれぞれについて免疫組織化学染色(Immunohistochemistry, 以下IHC)とreal-time qRT-PCR法を適用した。IHCの結果は、デジタル画像解析プログラムを用いて半自動細胞計数を行った。各免疫マーカーと臨床病理学的因子との関連については、統計学的に評価した。

4. 研究成果

OSCCにおいて、CSCの免疫表現型であるCD44v3^{high}/CD24^{low}の症例、および腫瘍実質と間質におけるPD-L1/PD-1陽性細胞密度が高い症例は、生存率が有意に低かった。さらに、CSCの免疫表現型(CD44v3^{high}/CD24^{low})とPD-L1/PD-1の共発現が高い患者は、生存率がさらに低かった($P < 0.01$ 、log-rank検定)。注目すべきは、CD44v3とPD-L1発現の間に正の相関($r = 0.1096$ 、 $P = 0.0366$ 、Kendall順位相関係数)があり、CD24とPD-1発現の間に負の相関($r = -0.1387$ 、 $P = 0.0089$ 、Kendall順位相関係数)があったことである。さらに、IHCで判定したCD44v3高発現群では、CD44v3の負の制御因子であるU2 small nuclear RNA auxiliary factor 1(以下、U2AF1)のmRNAレベルでの発現が、CD44v3低発現群に比べて有意に低下しており($P < 0.001$ 、Mann-Whitney U検定)、U2AF1とPD-L1のmRNAレベルでの発現は有意な負の相関を示した($r = -0.3948$ 、 $P < 0.001$ 、

Kendall 順位相関係数)。

結論として、OSCC における CSCs は、PD-L1/PD-1 の共発現を介して、宿主の免疫機構を回避し、CSC の幹細胞性を維持することで、好ましくない臨床転帰をもたらすことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 1件）

1. 著者名 Todoroki Keita, Abe Yushi, Matsuo Katsuhisa, Nomura Hidetoshi, Kawahara Akihiko, Nakamura Yoshiaki, Nakamura Moriyoshi, Seki Naoko, Kusukawa Jingo	4. 巻 27
2. 論文標題 Prognostic effect of programmed cell death ligand 1/programmed cell death 1 expression in cancer stem cells of human oral squamous cell carcinoma	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2024.14213	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 轟圭太、安陪由思、松尾勝久、野村英壽、河原明彦、中村芳明、中村守厳、関直子、楠川仁悟
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるがん幹細胞マーカーとPD-1/ PD-L1の発現に関する臨床病理学的検討
3. 学会等名 第67回日本口腔外科学会総会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 轟圭太、安陪由思、松尾勝久、野村英壽、河原明彦、中村芳明、中村守厳、関直子、楠川仁悟
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるがん幹細胞マーカーとPD-1/ PD-L1の発現に関する臨床病理学的検討
3. 学会等名 第41回日本口腔腫瘍学会総会学術大会
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
---------------------------	-----------------------	----

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