

令和 5 年 6 月 4 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18730

研究課題名（和文）口腔がんにおけるネオアンチゲンの同定と新規個別化がんワクチン療法の開発

研究課題名（英文）Identification of neoantigens in oral cancer and development of novel personalized cancer immunotherapy

研究代表者

平山 真敏（Hirayama, Masatoshi）

熊本大学・大学院生命科学研究部（医）・助教

研究者番号：50779171

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）：口腔がんにおけるネオアンチゲンを同定するにあたって、まず口腔がんにおける腫瘍微小環境の免疫動態の解析を行なった。まず、腫瘍組織の免疫組織的染色（CD3、CD8、CD4、Foxp3、PD-1）を行い、腫瘍周囲のFoxp3とEGFR発現に相関を認めた。次に、口腔がん患者のPBMCとTILを採取し、CTLの分画とTregの分画（CD25陽性Foxp3陽性）の割合およびその疲弊をFlowcytometryで解析した。その結果、CTLの疲弊（PD-1陽性）と栄養スコア（NLR）に相関を認めた。口腔がん患者に対するがん免疫療法について、EGFR抗体を併用する有効性と栄養療法介入が有効であることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行口腔がんに対しては、以前より手術療法に加えて放射線療法や化学療法を組み合わせることが一般的である。しかし、口腔がん患者の5年生存率は過去30年間ほとんど変化しておらず、がん免疫療法が口腔がん治療のブレークスルーとなることが期待される。がん免疫療法は、患者個人の免疫状態によってその効果は大きく異なるとされ、個別化治療が有効である。しかし、口腔がん患者における患者個々の免疫状態の解析は未だ不十分である。したがって、本研究の社会的意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：To identify neoantigens in oral cancer, we first analyzed the immunokinetics of the tumor microenvironment in oral cancer. First, immunohistochemical staining of tumor tissue (CD3, CD8, CD4, Foxp3, PD-1) was performed, and a correlation was observed between Foxp3 and EGFR expression around the tumor. Next, PBMCs and TILs from oral cancer patients were collected and analyzed by flowcytometry for the percentage of CTL fraction and Treg fraction (CD25 positive Foxp3 positive) and their exhaustion. The results showed a correlation between CTL exhaustion (PD-1 positivity) and nutritional score (NLR). The effectiveness of concomitant EGFR antibody and nutritional therapy intervention was demonstrated for cancer immunotherapy for oral cancer patients.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

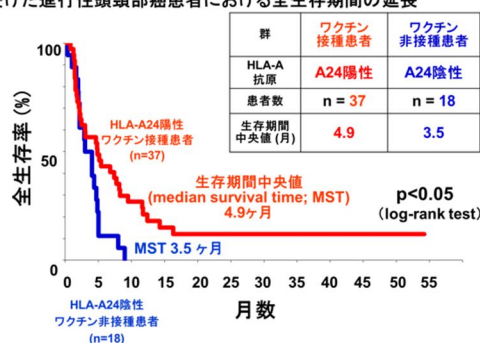
研究分野：口腔がん

キーワード：口腔がん がん免疫療法 ネオアンチゲン

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平上皮がん (OSCC) 患者の 5 年累積生存率は新規診断法や治療方法が開発された現在も劇的な改善には至っておらず、今後の口腔がん患者のさらなる生存率の改善には再発・転移症例をいかに制御するかが重要な課題である。近年、口腔がんの新たな治療選択肢として免疫療法の一つである免疫チェックポイント阻害薬 (Immune Checkpoint Inhibitor: ICI) が登場した。OSCC でも抗 PD-1 抗体薬が再発・転移をきたした頭頸部がん患者に適応となり、がん免疫治療が口腔がん治療のブレイクスルーとなることが期待される。申請者はこれまで、口腔がんに対するがん免疫療法の試みとして、がんペプチドワクチン療法を行ってきた。これは、3 種類のがん抗原に由来する HLA-A24 結合性の細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) 誘導性ペプチドを用いたがんペプチドワクチン療法の医師主導型臨床試験で、進行口腔がん患者を対象に施行し、その安全性と臨床効果を報告した (図 1)。また、これらの CTL 誘導性ペプチドを用いて、根治的手術後の口腔がん患者を対象に、再発予防を目的とした術後アジュバントがんペプチドワクチン療法の医師主導臨床試験を行った。

図 1. CTLを誘導するがん抗原ペプチド3種混合ワクチンの接種を受けた進行性頭頸部癌患者における全生存期間の延長



免疫チェックポイント阻害療法の課題としては、奏効率の低さ、超高額な薬価、治療効果や有害事象を予測するマーカーが確立されていないなどが挙げられる。これらの問題点を解決すべく、治療効果や有害事象の予測マーカーの開発や、がん免疫療法と従来の標準療法、もしくは複数のがん免疫療法の併用療法の開発が精力的に行われている。本研究は、これらの免疫チェックポイント阻害薬と当科で行っていたペプチドワクチン療法の併用療法により、より強力ながん免疫療法の開発ができないかと考えたことから着想を得た。

2. 研究の目的

本研究の目的は、口腔がん患者に対するより有効性の高いがん免疫療法の開発を目指して、まずは口腔がんにおける腫瘍微小環境中の免疫動態を解析し、より効果の高いがん免疫療法の開発、およびネオアンチゲン由来のがんペプチドワクチン療法などの個別化がん免疫療法の開発の可能性を探ることである。

3. 研究の方法

当科の進行 OSCC 患者の腫瘍組織検体の免疫組織学的染色を行なった。CD8 および CD206 の単染色、Foxp3・CD3 の二重染色を施行し、それぞれの腫瘍微小環境中の Treg および周囲免疫プロファイルを解析した。また、OSCC 患者の腫瘍検体から腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を採取し、それらの細胞中の CD4、CD8、CD25、Foxp3 の分画をフローサイトメトリーを用いて解析した。さらに、OSCC 患者の末梢血単核球 (PBMC) を採取し、PBMC 中の免疫細胞 (CD3 陽性細胞・CD4 陽性細胞・CD8 陽性細胞) の分画とこれらの免疫疲弊の状態 (PD-1 分子、TIM-3 分子、LAG-3 分子の発現) を、フローサイトメトリーを用いて解析した。これらの結果と、OSCC 患者の臨床データ (予後、栄養状態、EGFR スコアなど) の関連を解析した。

また、免疫組織学的染色で EGFR スコアと腫瘍周囲の制御性 T 細胞 (Treg) の浸潤に相関があったため、追加実験として口腔がん培養細胞株(HSC3)を用いて、抗 EGFR 抗体投与による上清中の CCL17、CCL22、CXCL10、IL-10 の発現変化を real-time PCR にて解析した。

4 . 研究成果

免疫組織学的染色にて Foxp3 陽性細胞数 (図 1, 2) と EGFR スコアに統計学的に有意な関連を認めた (図 3)。また、Foxp3 陽性細胞/CD3 陽性細胞と EGFR スコアにも有意な関連を認めた (図 3)。CD8 陽性 T 細胞と EGFR スコアに関連は認めなかった。さらに HSC3 では、抗 EGFR 抗体投与による培養上清中の CCL22、CXCL10、IL-10 の発現変化に有意な相関を認めた。

また、PBMC 中の PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞の割合と栄養指標の一つである Neutrophil Lymphocyte Ratio (NLR) の間に相関を認めた。

これらの結果から、がん免疫療法と抗 EGFR 抗体の併用の可能性、およびがん免疫療法における患者個々の栄養状態の重要性が示された。これらの結果をもとに、今後も口腔がんに対する個別化がん免疫療法の開発の可能性を探っていきたい。

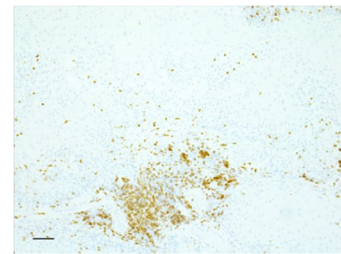


図 1

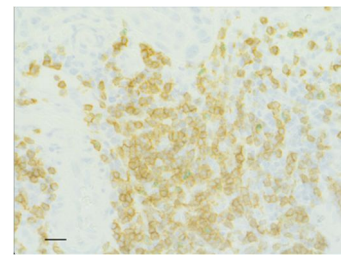


図 2

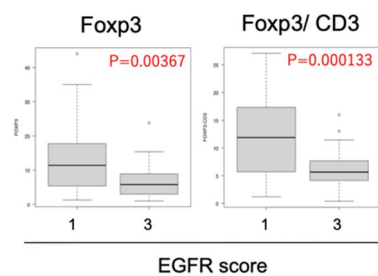


図 3

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Taku Kojima, Akira Yuno, Masatoshi Hirayama, Daiki Fukuma, Masanori Shinohara, Yasuharu Nishimura, Hideki Nakayama	4. 巻 -
2. 論文標題 Development of HLA-modified induced pluripotent stem cell-derived dendritic cells applicable for a novel cancer immunotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology	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 オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ryoji Yoshida, Masashi Nagata, Akiyuki Hirotsue, Kenta Kawahara, Masafumi Nakamoto, Masatoshi Hirayama, Nozomu Takahashi, Yuichiro Matsuoka, Junki Sakata, Hikaru Nakashima, Hidetaka Arita, Akimitsu Hiraki, Masanori Shinohara, Ken Kikuchi, Hideki Nakayama	4. 巻 15
2. 論文標題 Efficacy of adjuvant chemotherapy with S-1 in stage II oral squamous cell carcinoma patients: A comparative study using the propensity score matching method	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0231656
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0231656	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 井上 淳貴, 吉田 遼司, 坂田 純基, 川原 健太, 平山 真敏, 廣末 晃之, 永田 将士, 中山 秀樹
2. 発表標題 舌癌における頸部後発転移予測システムの開発
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2020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
---------	---------