

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：33703

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K10150

研究課題名(和文) 化学療法抵抗性の頭頸部腫瘍を伴う患者でニボルマブが化学療法を著効する仕組みの解明

研究課題名(英文) Study for mechanisms that molecularly-targeted therapy with Nivolumab augments chemotherapy efficiency on patients with chemotherapy-resistant head and neck cancers

研究代表者

長縄 鋼亮 (KOSUKE, NAGANAWA)

朝日大学・歯学部・講師

研究者番号：50712452

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)：化学療法抵抗性の頭頸部腫瘍(HNC)を伴う患者で、ニボルマブによる分子標的療法後に、化学療法が奏功する症例が散見される。

HNCs、ニボルマブ、抗癌剤のいずれもが患者の免疫能に干渉する。しかし、免疫系が健全なマウスに患者HNCsを移植することはできない。また、免疫不全のヌードマウスで、免疫系に及ぼす影響を検討することは困難である。

そこで、マウスHNC細胞株から、シスプラチン抵抗性の細胞群を樹立した。そして、この抗癌剤抵抗性細胞群の形態と発現分子および移動能と浸潤能を調べた。さらに、免疫能が健全な同系統マウスに移植するモデルを樹立して、全身免疫能に及ぼす影響を検討した(投稿準備中)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本動物モデルは、患者HNCにおいてニボルマブによる分子標的療法後に化学療法が奏功する仕組みを検討するに有効である。本動物モデルを用いた本研究を引き続き発展させることで、単に患者の免疫能への影響やその仕組み明らかにするのみならず、治療後のQOL改善および様々な疾病の予防や治療に有益な新規の知見を与えると期待される。

研究成果の概要(英文)：There are cases for Nivolumab-augmented chemotherapy efficiency on patients with chemotherapy-resistant head and neck cancers (HNCs).

HNCs, Nivolumab and anticancer drugs, all modulate the immunities on patients. It is impossible human HNC cells transplant into a mouse with normal healthy immunities. Also it is difficult to study the mechanisms of anti-tumor immunities on immunodeficiency nude mice implanted with human HNC.

In this study, the cisplatin-resistant cells were established generated from the murine HNC cell line. And then, morphologies, expressed molecules, and migrated capacities and invasive activities were characterized on anticancer drug-resistant HNC cells. Moreover, the murine model with normal healthy immunities and syngeneic transplanted with anticancer drug-resistant HNC cells were established, and modulated immunities were investigated on mice transplanted with anticancer drug-resistant cells. (manuscript in preparation).

研究分野：頭頸部癌

キーワード：頭頸部腫瘍 分子標的薬 化学療法

1. 研究開始当初の背景

頭頸部腫瘍 (HNC)・ニボルマブ・抗癌剤のいずれもが、患者の免疫能に干渉する。そして、化学療法抵抗性の HNC を伴う患者で、ニボルマブによる分子標的療法後に、化学療法が奏功する症例が散見される。ところが、この仕組みを調べるために、免疫不全のヌードマウスに患者の HNC を移植して腫瘍や治療が免疫系に及ぼす影響を検討することや、免疫系が健常なマウスに患者の HNC を移植することは困難である。T 細胞分化の場である胸腺を欠いたヌードマウスは、ニボルマブの標的分子である PD-1 を発現する T 細胞を欠損している。免疫系が健常なマウスは、異種異系統である患者の HNC を異物として拒絶する。患者の骨髄で免疫系を再構成したマウスの作成は煩雑である。

ところで、腫瘍を伴う患者において、腫瘍組織には CD14 陽性 CD33 陽性 HLA-DR 陰性 (マウスでは CD11b 陽性 Ly6C/G 陽性) の骨髄由来抑制細胞 (MDS 細胞) や、CD4 陽性 CD25 陽性 Foxp3 陽性の調節性 T 細胞 (Treg 細胞) が浸潤する。また、末梢血中では Fizz や Ym1 を発現する M2 マクロファージ細胞や、CD57 陽性 CD28 陰性の終末分化型 T 細胞 (CD57+T 細胞) の割合が増加する。そして、末梢血のサイトカイン産生能は M1 細胞由来の IL-1 などより M2 細胞由来の IL-10 などの産生や、Th1 関連サイトカインより Th2 関連サイトカインの産生に傾向する。本研究代表者らも、頭頸部腫瘍 (HNC) 患者末梢血中で CD57+T 細胞が病期の進行に伴い増加していたことを明らかにした (Naganawa K, ら, Anticancer Res, 2014)。さらに本研究代表者らは、HNC 患者末梢血の Th1 関連抗腫瘍サイトカイン IFN- γ の産生能は病期の進行に伴い減弱して CD57+T 細胞の増加と逆相関することを明らかにし、IL-10 の産生能はリンパ節転移および病理組織像との関連を示唆した (Naganawa K, ら, Op Dent J, 2015)。これらは、胃がんや肝細胞がんなど他の腫瘍を伴う患者においても他の多くの研究者らによる報告と大きな差異は無い。しかし、HNC を伴う患者に限らず、化学療法感受性の腫瘍と化学療法抵抗性の腫瘍が抗腫瘍免疫能や全身免疫能に及ぼす影響の違いの検討はほとんどなされていない。

頭頸部腫瘍 (HNC) を伴う患者の治療において、2012 年にセツキシマブ (アービタックス, 抗 Erb-B2 抗体製剤) による、2017 年にニボルマブ (オプジーボ, 抗 PD-1 抗体製剤) による、分子標的療法への保険適用が認可された。シスプラチンによる化学療法と放射線療法の併用が困難な症例に対してセツキシマブによる分子標的療法と放射線療法が用いられ、再発症例や転移症例に対してセツキシマブによる分子標的療法およびシスプラチンとフルオロウラシルによる併用化学療法が用いられる。一方、シスプラチンによる化学療法に抵抗性の症例で、ニボルマブによる分子標的療法後に抗がん剤が奏功される症例が散見される。セツキシマブの標的分子は癌遺伝子である EGF 受容体であり、腫瘍そのものに作用していると考えられる。一方、ニボルマブの標的分子は T 細胞上に発現されている免疫チェックポイントに働く PD-1/CD279 分子であり、腫瘍そのものに作用しているのではなく、患者の免疫系を担う T 細胞に作用していると考えられる。したがって、腫瘍や化学療法のみならず、ニボルマブによる分子標的療法も、患者の免疫能に干渉する。化学療法抵抗性の HNC が PD-1 分子のリガンドである PD-L1/CD274 分子を高発現している症例も報告されているが、HNC の PD-L1 分子の発現に関わらずニボルマブが著効した疫学的報告もある。化学療法抵抗性の腫瘍を伴う患者において、ニボルマブによる分子標的療法後に化学療法が著効する仕組みは未だ十分には明らかにされていない。

2. 研究の目的

化学療法感受性の HNC と化学療法抵抗性の HNC の違いを検討するための、マウスを用いた動物モデルを樹立した。そして、化学療法感受性の腫瘍と化学療法抵抗性の HNC が全身免疫能に及ぼす影響の違いを検討した。

3. 研究の方法

化学療法感受性の HNC と化学療法抵抗性の HNC が、患者の抗腫瘍免疫能や全身免疫能に及ぼす影響の違いを検討するために、C3H/HeN 系統マウス由来の化学療法感受性 HNC 細胞株 Sq1979 から化学療法抵抗性細胞集団 SqR を作成した。そして、Sq1979 細胞と SqR 細胞の発現分子・増殖能・運動能・浸潤能の違いを調べた。

さらに、Sq1979 細胞と SqR 細胞を C3H/HeN 系統マウスに同種同系統移植した、HNC を伴う動物モデルを樹立した。そして、これらの動物モデルの MDS 細胞亜集団と T 細胞亜集団およびサイトカイン産生能を調べ、化学療法感受性 HNC と抵抗性 HNC それぞれ、患者の全身免疫能に及ぼす影響の違いを検討した。

4. 研究成果

本研究において作成した SqR 細胞はシスプラチン添加培養液中で生存・増殖をしたが、起源の Sq1979 細胞は死滅した。そして、SqR 細胞は CD44 分子や adenosine triphosphate (ATP)-binding cassette transporter G2 (ABCG2) 分子を、Sq1979 細胞に比べ、高発現していた。

本研究において樹立した SqR 細胞を同種同系統移植されたマウスにおける MDS 細胞の増加は、

Sq1979 細胞を移植されたモデル動物におけるそれらに比べ、より顕著であった。しかし、SqR 細胞と Sq1979 細胞を移植されたマウスにおける T 細胞亜集団にほとんど違いは無かった。

マウス由来のHNC株から、抗がん剤抵抗性のHNC由来SqR細胞群を作成した。そして、免疫系が健全な同種同系統マウスにSqR細胞群を移植した、抗がん剤抵抗性のHNCモデル動物を樹立した。これらの細胞群やモデル動物の樹立は、本研究において抗がん剤抵抗性HNCが患者の全身免疫能に及ぼす影響を調べたのみならず、さらにニボルマブによる分子標的療法後に化学療法が奏功する仕組みの検討や新規治療を探るに有用であると期待される。本研究により得られた知見は、単に患者の免疫能への影響やその仕組みを明らかにしたのみならず、治療後のQOL改善および様々な疾病の予防や治療に有益な新規の知見を与えるものである。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 篠島一将、落合隆永、江原道子、中尾寿奈、高橋萌、長縄鋼亮、江原雄一、永山元彦、村松泰徳、住友伸一郎	4. 巻 49巻
2. 論文標題 口腔粘膜細胞診で判定する上皮細胞の形態的特徴を裏付ける細胞骨格分子	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科学会誌	6. 最初と最後の頁 73 80
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 早瀬泰博 早瀬友克 長縄鋼亮 横矢隆二 山村 理 藤原周	4. 巻 49
2. 論文標題 感圧センサー FSR400 の咬合力測定装置への応用可能性の検討	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科学会誌	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） 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 長縄鋼亮、鶴飼 哲、松原 誠、渡邊一弘、高橋 萌、山岡真太郎、江原雄一、住友伸一郎、村松泰徳	4. 巻 48
2. 論文標題 先天性第 因子欠乏症患者の血管内乳頭状内皮過形成切除の1例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 153-158
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 Watanabe K, Yamauchi M, Miyao M, Watanabe R, Kasai T, Ehara Y, Naganawa K, Ukai A, Takahashi M, Matsusita T, Yasumura S, Muramatsu Y, Sumitomo S.	4. 巻 48
2. 論文標題 Changes in hardness of mouthguard materials after heating and pressure molding	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 137-141
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 Watanabe K, Miyao M, Ehara Y, Naganawa K, Takahashi M, Ukai A, Matsushita T, Yasumura S, Harada N, Sumitomo S, Muramatsu Y.	4. 巻 48
2. 論文標題 Custom-made mouthguard fabrication by using gothic arch tracing for a jaw deformity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 143-151
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 笠井唯克、渡邊一弘、稲垣友里、長縄鋼亮、江原雄一、田中四郎、住友伸一郎、村松泰徳	4. 巻 48
2. 論文標題 顔面多発骨折後の咬合不全に対し両側下顎枝矢状骨切り術を行った一例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 岐阜歯科医学会雑誌	6. 最初と最後の頁 159-164
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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 松下 貴裕, 江原 雄一, 長縄 鋼亮, 渡邊 一弘, 高橋 萌, 鶴飼 哲, 安田 雅基, 住友 伸一郎, 村松 泰徳
2. 発表標題 当院における tumor budding と術後顎部リンパ節転移の関係性からみる今後の治療戦略
3. 学会等名 日本口腔外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 貴裕, 安村 真一, 長縄 鋼亮, 村松 泰徳
2. 発表標題 左側下顎第一乳臼歯に発現したセメント芽細胞腫の1例
3. 学会等名 日本小児口腔外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 貴裕, 松塚 崇, 江原 雄一, 長縄 鋼亮, 住友 伸一郎, 村松 泰徳, 長谷川 泰久
2. 発表標題 tumor budding観察による早期舌癌の術後頸部リンパ節転移予測
3. 学会等名 頭頸部癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 水谷早貴, 谷口裕重, 多田 瑛, 長縄鋼亮, 江原雄一, 鶴飼 哲, 岩瀬陽子, 村松泰徳
2. 発表標題 摂食嚥下リハビリテーションにおけるオンライン診療導入とその効果
3. 学会等名 第65回日本口腔科学会中部地方部会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 貴裕, 長縄 鋼亮, 江原 雄一, 渡邊 一弘, 高橋 萌, 鶴飼 哲, 古田 慎太郎 笠井 唯克, 住友 伸一郎, 村松 泰徳
2. 発表標題 ナビゲーションシステムを用いて口腔底迷入歯を摘出した1症例
3. 学会等名 第47回日本口腔外科学会中部支部学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 長縄 鋼亮
2. 発表標題 Nivolumab治療後パクリタキセルが奏功した一例
3. 学会等名 第6回岐阜県頭頸部腫瘍研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江原雄一、長縄鋼亮、鶴飼哲、安田雅基、島村佳明、松下貴裕、高橋萌、渡邊一弘、住友伸一郎、村松泰徳
2. 発表標題 再発舌癌術後に急性呼吸促進症候群を発症した1例
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高橋萌、江原雄一、長縄鋼亮、渡邊一弘、鶴飼哲、落合隆永、永山元彦、村松泰徳
2. 発表標題 歯源性角化嚢胞から発生した原発性骨内癌の一例
3. 学会等名 第46回日本口腔外科学会中部支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 多田映、谷口裕重、長縄鋼亮、江原雄一、村松泰徳
2. 発表標題 機能的障害による鼻咽腔閉鎖機能不全に対する複合型嚙下補助装置
3. 学会等名 第64回日本口腔科学会中部地方部会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松下貴裕、江原道子、原田尚武、松岡太相、宮本侑果、中尾寿奈、江原雄一、渡邊一弘、長縄鋼亮、高橋萌、鶴飼哲、金子裕康、苅谷裕子、安田雅基、落合隆永、笠井唯克、石橋浩滉、永山元彦、村松泰徳、住友伸一郎
2. 発表標題 口腔粘膜上皮の腫瘍性変化におけるHMGB 1 発現動態
3. 学会等名 第46回日本口腔外科学会中部支部学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 江原雄一、本橋征之、長縄鋼亮、高橋萌、篠島一将、鶴飼哲、渡邊一弘、村松泰徳、住友伸一郎
2. 発表標題 セキツマシブ+パクリタキセル併用化学療法中に気胸を生じた2例
3. 学会等名 第75回NPO法人日本口腔科学会学術集会
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
研究分担者	村松 泰徳 (Muramatsu Yasunori) (30247556)	朝日大学・歯学部・教授 (33703)	
研究分担者	高山 英次 (Takayama Eiji) (70533446)	朝日大学・歯学部・准教授 (33703)	
研究分担者	梅村 直己 (Umemura Naoki) (80609107)	朝日大学・歯学部・講師 (33703)	

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