

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592971

研究課題名(和文) 口腔癌再発に関わる骨髄単球細胞のマクロファージへの分化機構

研究課題名(英文) The role of macrophage polarization in recurrence of oral cancer

研究代表者

來生 知 (KIOI, Mitomu)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：30545059

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円、(間接経費) 1,140,000円

研究成果の概要(和文)：口腔癌において、放射線治療後の再発、再増殖にCD11b+骨髄単球細胞が関与していることが示唆された。マウス実験において、CD11b+骨髄単球細胞は腫瘍が再発、再増殖を開始する直前に腫瘍内へと誘導されており、さらに、これらの細胞の一部は血管の安定化、正常化を担う血管新生誘導因子Tie2を発現したTEM(Tie2-expressing macrophage)であったことから、CD11b+骨髄単球細胞が、照射後の腫瘍血管の再形成と、それによる腫瘍の再発、再増殖に深く関与していることが考えられる。また、誘導されたCD11b+骨髄単球細胞の多くがM2マクロファージで腫瘍増殖に寄与するものと思われる。

研究成果の概要(英文)：Radiotherapy and chemotherapy play a major role in the treatment of oral cancer as conservative therapy. However, tumors recur or grow after those treatment in many cases. In this study, we investigated if the irradiation and chemo drug affect the tumor vasculature using human oral cancer clinical samples and xenograft mouse model. We found higher levels of CD11b+cells in recurrent tumors compared with those in the untreated primary tumors. Next, we performed sub-class analysis of CD11b+ monocytes that were recruited into tumor following irradiation using OSC-19 bearing mice. Tumors were collected at different time points after irradiation. Highest number of CD11b+cells was recruited into tumors in two weeks after irradiation, and many of them showed co-expression of Tie2, which is thought as proangiogenic TIE2-expressing macrophages (TEMs). The data suggest that recruited TEMs are deeply involved in tumor recurrence after anti-cancer treatment.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系歯学

キーワード：がん微小環境

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍において治療後の再発、再増殖は最も治療結果を左右する重要な要素の一つであるが、その際に腫瘍血管の再生が不可欠である事が知られている。ごく最近申請者は、悪性腫瘍の放射線治療後に骨髄細胞が腫瘍内に取り込まれている事を発見した。中でも抗原マーカーであるCD11bを有する骨髄単核細胞群が腫瘍血管の再形成に重要である。すなわち、放射線照射後に起こる腫瘍血管の再生は、既存の血管から起こるいわゆるangiogenesisではなく、腫瘍内に誘導される骨髄細胞中のある一群によって起こるvasculogenesisに起因する事が明らかにされた。

腫瘍血管をターゲットとした抗血管新生療法の研究や臨床開発、臨床試験は現在アメリカを中心として世界中で活発に行われているが、その全てが既存の血管を標的とする、いわば抗アンジオジェニック療法であり、また期待される程の成果が見られていないのが現状である。

2. 研究の目的

口腔癌の治療は主に化学療法、放射線療法および外科的療法で全体の5年生存率は約60%と比較的良好である。しかしながら、全体の46%を占める進行口腔癌では、手術侵襲により嚥下・構音などの機能障害や審美障害が著しいことから放射線療法、化学療法による保存療法を選択するケースが少なくない。しかし、治療技術の著しい進歩にも関わらず、治療後の再発がしばしば認められる。中でも、放射線療法後の再発症例において、その多くが照射野内からの再発であることは注目すべき点である。再発腫瘍の治療は困難になるため、

治療後に再発したがん細胞の制御は口腔癌の予後を改善するために早急に克服すべき課題の一つとなっている。本研究では、口腔がんにおける、上記骨髄細胞と腫瘍の再増殖の関連性の解析を行なう。

また生体組織を使用する事により、既存の細胞株を用いた研究では困難であった、微小環境の変化に対する組織としてのがんの反応が明らかにされ、その後の新規薬剤の開発に直接的につながるものと期待される。

3. 研究の方法

(1) 口腔扁平上皮癌患者(放射線照射を含むがん治療を行ったものの治療後に腫瘍の再発、再増殖を認めた症例)の組織標本を用いて、放射線治療後に腫瘍内に誘導されるCD11bを発現する骨髄単球細胞群について免疫組織学的に解析した。

(2) OSC-19(ヒト舌扁平上皮癌細胞株)を用いたマウス皮下腫瘍モデルを作製し、腫瘍体積がある一定の大きさに増殖した時点で放射線照射を施行した。放射線照射後の腫瘍微小環境の経時的变化を、CD11b(骨髄単球細胞)、Tie-2(受容体チロシンキナーゼ:血管新生誘導因子)、マクロファージマーカー(腫瘍増殖に寄与するマクロファージの分化系)について免疫組織学的に解析した。

(3) 担癌マウスに放射線照射と、M1、M2マクロファージへの誘導物質やマクロファージ枯渇物質を長期投与し、照射後の腫瘍増殖に及ぼす影響とその際の腫瘍微小環境の変化を免疫組織学的に検証し

た。

(4) 担癌マウスにドセタキセルと、マクロファージ枯渇物質を長期投与し、ドセタキセル投与後の腫瘍増殖に及ぼす影響を検証した。

4. 研究成果

(1) 同一患者から採取された治療前及び放射線治療後における腫瘍内の CD11b 細胞の陽性率を比較した所、11 例中 8 例(約

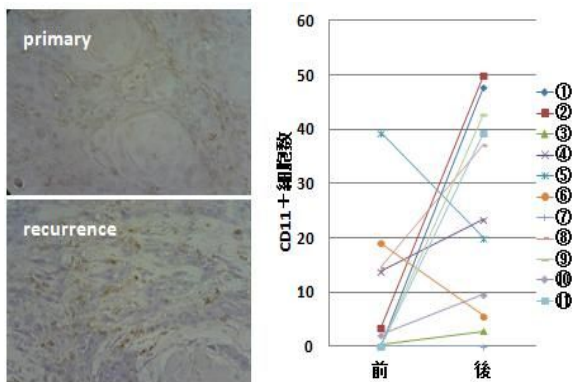
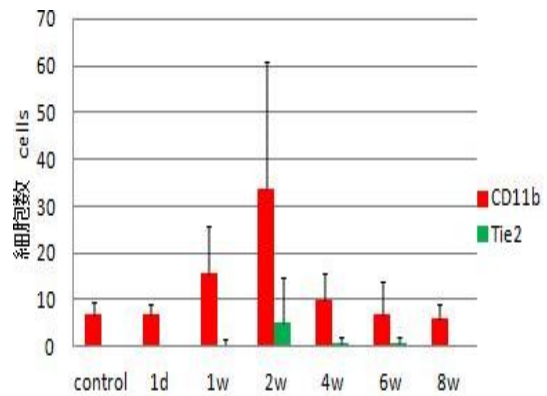


図1 同一患者から採取した口腔がん組織標本を用いてCD11b に対する免疫組織学解析を行ったところ、11例中8例で放射線治療後の腫瘍内CD11b陽性細胞の有意な上昇を認めた。

72%)で治療後の単球細胞の陽性率の上昇が認められた(図1)。

(2) 放射線照射後約 1~2 週目において CD11b+ 骨髄単球細胞の有意な腫瘍内誘導が確認され、これらの細胞の一部は血管の安定化・正常化を担う血管新生誘導因子 Tie-2 を発現した TEM(Tie2-expressing macrophage) であった(図2)。さらに、同時期の腫瘍内に腫瘍の増殖や生存に寄与する M2 マクロファージを認めた。

(3) M1、M2 マクロファージへの誘導物質、M 枯渇物質を投与したが、放射線照射後の腫瘍増殖への影響は認めなかった。



これは、これらの誘導物質の半減期が非常に短く効果を持続させることが困難なためと推察された。

しかしながら、投与物質に関係なく、照射後の再発や再増殖が速い腫瘍ほど M2 マクロファージの割合が多い結果であったことから、M2 マクロファージが腫瘍血管の再形成および腫瘍の再発に寄与、貢献している可能性が示唆される結果となった。

(4) マクロファージ枯渇物質を投与した群において、ドセタキセル (DOC) 投与後の腫瘍の増殖が著明に抑制され、DOC 投与後の腫瘍の増殖にマクロファージが関与していることが示唆された

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

來生 知. 癌再発に関わる微小環境ニッチと骨髄単球細胞の役割. 横浜医学 62 : 539-44 , 2011, 査読有り.

[学会発表](計 1件)

來生 知 .口腔癌に対する分子標的治療
の基礎と臨床 .第 5 8 回日本口腔外科学
会総会 . シンポジウム , 福岡 , 2013,
10.11.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

來生 知 (KIOI, Mitomu)
横浜市立大学・医学部・准教授
研究者番号 : 30545059

(2) 研究分担者

該当無し

(3) 連携研究者

該当無し