

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23792352

研究課題名（和文） 口腔癌術後補助療法における樹状細胞ワクチン療法の有用性に関する検討

研究課題名（英文） Examination of the dendritic cell vaccination in oral cancer adjuvant postoperative treatment

研究代表者

田野 智之（ Tano Tomoyuki ）

愛媛大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：10398026

研究成果の概要（和文）：

1. 頭頸部癌患者における Bax および Bcl-2 遺伝子発現により、患者の抗癌免疫能を評価することができ、有用な予後因子となることが強く示唆された。
2. 5-FU, Docetaxel は DC の PD-Ls の発現を抑制することにより DC の T 細胞活性化能を増強することが明らかになり、癌ワクチンと化学療法の最適併用プロトコールの確立に寄与すると考えられる。
3. 放射線、5-FU および OK-432 同時併用療法が抗腫瘍免疫反応を増強させることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

1. The expression of the genes of Bcl-2 and Bax may be useful prognostic factor in head and neck cancer patients.
2. The possibility that 5-FU may enhance the T cell-stimulating ability of dendritic cells via regulation of the expression of PD-L1 and PD-L2, and that the combination therapy of DC-based cancer vaccine with 5-FU may elicit better anti-tumor efficacy than only vaccination.
3. OK-432-based immunotherapy significantly enhanced therapeutic effects of chemoradiotherapy in patients with oral squamous cell carcinoma, but also elucidating mechanism of synergic effect of the immuno-chemoradiotherapy that 5-FU and radiation enhanced OK-432-induced Th1 response mediated by inhibition of expression of *SOCS1* and *SOCS3* genes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・外科系歯学

キーワード：樹状細胞

1. 研究開始当初の背景  
従来、口腔癌は手術療法、放射線療法、化学療法による集学的治療がなされてきたが、その治療成績は決して満足で

きるものではない。また、最近では有病あるいは高齢口腔癌患者が増加しており、標準的な治療が行えない場合も多い。一方、樹状細胞

(dendritic cell: DC) は、主たる抗原提示細胞であり、DCを用いた癌免疫細胞療法が多くの施設で行われている。しかし、一般にその治療効果は不十分なことが多く、本療法が有効な患者 (Responder) と有効でない患者 (Non-responder) を治療前に判別する方法は確立されていないのが現状である。そこで、われわれは高悪性度口腔癌患者を対象とした自己癌組織を用いた DC ワクチン療法の術後補助療法としての有用性に関する臨床研究を行う。

## 2. 研究の目的

本研究では従来の治療法 (手術療法、放射線療法、化学療法) に免疫療法を加えることにより口腔癌の補助療法として免疫療法の確立を目指す。すなわち、再発または転移リスクの高い (高悪性度) 口腔癌に対する術後補助療法として樹状細胞ワクチン療法の有用性と安全性を評価し、同時に宿主免疫活性の変化を同時に検討することにより、本治療法の治療効果予測法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

口腔癌患者に対して根治手術後に補助療法として自己癌組織を用いた樹状細胞ワクチン療法を実施し、その有用性と安全性を評価する。また、治療前後に口腔癌患者由来のヒト末梢血単核球 (PBMC) および血漿を採取し、詳細な免疫学的解析と網羅的遺伝子発現解析を行い、治療効果を予測できるバイオマーカーを同定する。

## 4. 研究成果

(1) 頭頸部癌患者のリンパ球において、pro-apoptotic 蛋白 Bax の強発現が認められ、T細胞のアポトーシスが誘導されることで、抗腫瘍免疫活性が低下していることが報告された。手術、放射線、抗癌剤あるいは免疫療法による治療を施行された 79 症例において、

Bcl-2/Bax 比と、再発および後発転移の発生、全生存率ならびに無病生存率との間に有意な関連性を認めた。また、免疫療法剤 OK-432 を投与した 43 症例のなかで、Bcl-2/Bax 比が高値を示す症例において、有意に IFN- $\gamma$  が誘導され、リンパ球のキラー活性も増強した。さらに、樹状細胞腫瘍内投与療法を施行された 4 症例のなかで、Bcl-2/Bax 比高値の症例において癌抗原特異的 CTL の誘導が認められ、良好な治療効果が得られた。頭頸部癌患者における Bax および Bcl-2 遺伝子発現により、患者の抗癌免疫能を評価することができ、有用な予後因子となることが強く示唆された。

## (2) Programed cell death 1 (PD-1)/PD-Ligands (PD-Ls)

pathway は、T細胞の negative regulatory pathway として知られている。PD-1 は主として T細胞に、PD-Ls は DC ならびに一部の癌細胞に発現し T細胞活性化の抑制に働く。特に抗原提示において DC が発現する PD-Ls による T細胞機能の抑制は癌ワクチンの効果発現において大きな問題である。最近、ある種の抗癌剤による宿主免疫状態の改善ならびにワクチン効果の増強効果が多くの施設から報告されており、抗癌剤と癌ワクチンの併用療法が試みられている。未熟 DC を OK-432 で成熟させることにより PD-L1 および PD-L2 の遺伝子発現は著しく増強した。この成熟 DC を 5-FU あるいは Docetaxel で処理することにより、増強された PD-L1, -L2 の発現は抑制されたが、CDDP または Gemcitabine で処理した場合は PD-Ls 発現の低下は認められなかった。未熟 DC 誘導後、OK-432 と同時にこれらの抗癌剤で処理した場合も同様の結果が得られた。未熟 DC とアロ T細胞との混合培養により IFN $\gamma$  が誘導され、成熟 DC により IFN $\gamma$  誘導の増強が認められたが、成熟 DC を 5-FU で処理することにより、さらなる IFN $\gamma$  産生の増強が認め

られた。5-FU, Docetaxel は DC の PD-Ls の発現を抑制することにより DC の T 細胞活性化能を増強することが明らかになった。この結果は癌ワクチンと化学療法の最適併用プロトコルの確立に寄与すると考えられる。

(3) 口腔癌に対して、放射線、5-FU 系経口抗癌剤および OK-432 の同時併用療法が、極めて有効であることを報告してきた。Th1 サイトカインが抗腫瘍免疫反応の増強に働き、Th2 サイトカインおよび TGF- $\beta$  は抑制的に働くサイトカインであることが知られている。本研究では、OK-432 による Th1/Th2 サイトカインおよび TGF- $\beta$  の誘導における、放射線および 5-FU の影響につき in vitro 実験系にて検討した。PBMC を、OK-432 で処理することにより、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-12 および IL-18 等の Th1 サイトカインのみならず IL-10 の誘導も認められた。TGF- $\beta$  は未処理 PBMC においても産生が認められ、OK-432 処理でも有意な産生増強は認められなかった。OK-432 と同時に 5-FU で処理することにより、IL-10 の誘導に有意な変化は認められなかったが、TGF- $\beta$  産生の著明な抑制効果が認められた。放射線単独では、IL-10 および TGF- $\beta$  の若干の産生増強が認められたものの、OK-432 と放射線の併用により、IL-10 および TGF- $\beta$  の有意な抑制効果が認められた。OK-432、放射線および 5-FU の同時処理では、IL-10 および TGF- $\beta$  の産生は最も強く抑制された。さらに、放射線および 5-FU により、OK-432 による SOCS3 の発現増強ならびに、STAT3 のリン酸化および転写活性化が抑制されていることが明らかとなり、IL-10 および TGF- $\beta$  の抑制作用に、これらの分子が関係していることが示唆された。放射線、5-FU および OK-432 同時併用療法が抗腫瘍免疫反応を増強させることが明らかとなった。

## 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 2 件)

1. Tano T, Okamoto M, Kan S, Nakashiro K, Shimodaira S, Koido S, Homma S, Sato M, Fujita T, Kawakami Y, Hamakawa H. Prognostic impact of expression of bcl-2 and bax genes in circulating immune cells derived from patients with head and neck carcinoma. Neoplasia. 15(3):305-14, 2013. 査読有

2. Tano T, Okamoto M, Kan S, Nakashiro K, Shimodaira S, Yamashita N, Kawakami Y, Hamakawa H. Growth inhibition and apoptosis by an active component of OK-432, a streptococcal agent, via Toll-like receptor 4 in human head and neck cancer cell lines. Oral Oncol, 48: 678-685, 2012 査読有

[学会発表] (計 4 件)

1. 口腔扁平上皮癌における癌抗原 WT1 および MUC1 の発現  
藤田陽平、中城公一、合田啓之、田野智之、浜川裕之  
第 31 回日本口腔腫瘍学会総会 (2013.1.24-25)、東京都

2. 5-FU は樹状細胞において PD-ligands 発現を抑制し T 細胞活性化能を増強させる  
田野智之、岡本正人、合田啓之、藤田陽平、中城公一、浜川裕之  
第 50 回日本癌治療学会 (2012.10.25-27)  
横浜市

3. 化学療法剤による樹状細胞の SOCS-1, -2 発現の抑制と T 細胞活性化能の増強  
田野智之、岡本正人、合田啓之、藤田陽平、中城公一、浜

川 裕 之  
第 25 回日本バイオセラピー学  
会 (2012.12.13-14) 倉敷市

4. 5-FU による樹状細胞の  
SOCS 発現の抑制と T 細胞活性  
化能の増強

田 野 智 之、岡 本 正 人、合 田 啓  
之、藤 田 陽 平、中 城 公 一、浜  
川 裕 之

第 60 回口腔科学会中国四国地  
方部会 (2012.10.6) 広島市

5. 放射線ならびに 5-FU は、  
OK-432 により誘導される抗  
腫瘍免疫を増強させる

田 野 智 之、岡 本 正 人、中 城 公  
一、浜 川 裕 之

第 49 回日本癌治療学会  
(2011.10.27-29)

名古屋市

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

田 野 智 之 (Tano Tomoyuki)

愛媛大学・医学部附属病  
院・専攻医

研究者番号 : 10398026

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし