

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11679

研究課題名(和文) 口腔癌特異的C5a受容体阻害剤の開発と癌増殖メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of cancer growth mechanisms by C5a-C5aR axis

研究代表者

今井 優樹 (Imai, Masaki)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師

研究者番号：30440936

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：多くの癌組織でC5aレセプター(C5aR)が過剰に発現しており、C5aがC5aRに結合することで癌の増殖、浸潤や転移を引き起こす。口腔癌細胞株においてC5aRが発現しているかを検討したところ、C5aRのmRNAが検出された。その一方で、C5a-C5aRシステムが制御性T細胞への分化および癌組織への制御性T細胞(Treg)浸潤に関与しているという報告があることから、頭頸部癌浸潤TregのRNAシーケンスを行った。しかしながら、C5a-C5aRシステムがTregの分化および癌組織への浸潤に関与しているという報告があるにもかかわらず、TregではC5aRの発現が低かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多くの癌組織でC5a-C5aRシステムが癌の浸潤や転移に関わっているが、本研究では今まで明らかにされていない『口腔癌とC5a-C5aRシステムの関係』を明らかできることが特徴である。本研究で口腔癌の増殖にC5a-C5aRシステムの関与が示唆されたが、免疫系を制御するが制御性T細胞の分化、浸潤に関与しなかったことから、腫瘍特異的なC5aR阻害剤を作成できれば副作用が少なく、高い抗腫瘍効果が得られると予想され、臨床応用への可能性がある。

研究成果の概要(英文)：C5a receptor (C5aR) is overexpressed in many cancer tissues, and binding of C5a to C5aR causes cancer growth, invasion and metastasis. We first examined whether C5aR expresses of the oral cancer cell lines or not, mRNA level of C5aR was highly detected. On the other hand, it has been reported that the C5a-C5aR system induces the differentiation of regulatory T cells (Treg cells) and invasion of Treg cells into cancer tissues. However, despite the reports that the C5a-C5aR system acts Treg cells, expression level of C5aR was very low on Treg cells.

研究分野：免疫学

キーワード：C5a 補体 制御性T細胞

1. 研究開始当初の背景

口腔領域の癌治療では形態及び機能の温存が、患者にとっての精神的及び身体的負担を大きく軽減させる。それ故に口腔癌発生・進展のメカニズムを解明するとともに副作用が少なく、奏効率の高い治療法の開発は急務である。

自然免疫を担う補体タンパク質である C5a は補体活性化によって産生され、C5a レセプター (C5aR) を発現する免疫細胞を炎症局所に集積させ、その細胞を活性化する。その一方、C5aR が肺癌、腎癌、胃癌、乳癌、胆管癌、大腸癌などで高発現し、転移や臨床進行度と強く相関することが近年数多く報告されている。しかしながら、口腔癌における C5aR の発現は未だ明らかでない。C5a-C5aR システムによる癌増殖・転移メカニズムは、癌細胞自らが産生した C5 を分解し、C5a を生成し、癌細胞に発現している C5aR に結合することによって増殖シグナルや浸潤を誘導するシグナルを細胞内に伝えるオートクリン作用によることが示唆されている。また、C5a が癌組織に浸潤している骨髄由来抑制細胞 (MDSC) や制御性 T 細胞 (Treg) の比率を高め、抗腫瘍免疫を抑制することもマウスモデルで報告されているが、ヒトにおいて C5aR の発現と癌組織へ浸潤した細胞傷害性 T 細胞 (CTL) や Treg との関連性は未だに明らかでない。

2. 研究の目的

C5a-C5aR システムが Treg への分化および癌組織への Treg 浸潤に関与していることや、頭頸部癌においても Treg の活性を抑制する免疫チェックポイント阻害剤が治療薬として承認されたことから、C5a-C5aR システムが口腔癌の増殖を增強し、癌組織への Treg 浸潤を促進させ、より難治性の口腔癌に変化させているのではないかと考えた。そこで本研究では、C5aR の口腔癌での発現と C5a-C5aR システムの腫瘍免疫応答における役割を明らかにするため、口腔癌患者組織における C5aR の発現レベル及び癌組織に浸潤している Treg の解析を行う。

3. 研究の方法

ヒト口腔癌組織における C5aR 発現レベルの検討

口腔癌細胞株における C5aR の mRNA を検出する。検鏡による C5aR 発現レベルの決定は 2 名以上の研究者によってブラインドで行う。

口腔癌を含む頭頸部癌組織を浸潤 Treg と C5aR の関連性の検討

口腔癌を含む頭頸部癌の患者様の中から同意をいただいた方の腫瘍組織を集める。採取した腫瘍組織の一部から腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を採取する。TIL は抗 CD4 抗体などで細胞表面を染色した後、細胞内の Foxp3 などの転写因子やサイトカインに対する抗体で染色し、フローサイトメーターで解析する。また、頭頸部癌に浸潤した制御性 T 細胞における特徴的な遺伝子発現を明らかにするためトランスクリプトーム解析を行う。

4. 研究成果

まず、口腔癌細胞株において C5aR が発現しているかどうかを検討したところ、確認した口腔癌細胞株すべてにおいて C5aR の mRNA が検出された (図 1)。

次に、C5a-C5aR システムが制御性 T 細胞への分化および癌組織への制御性 T 細胞浸潤に関与しているという報告があることから、名古屋市立大学病院の耳鼻咽喉科頭頸部外科グループの協力を経て口腔癌を含む頭頸部癌のサンプルを得て、腫瘍浸潤リンパ球中の制御性 T 細胞の比率をフローサイトメーターで検討した。その結果、頭頸部癌の原発腫瘍や頭頸部癌の転移のあるリンパ節において Foxp3 陽性の制御性 T 細胞が多かった (図 2)。さらに、これらの頭頸部癌浸潤制御性 T 細胞は、かなりの比率で制御性共刺激因子 CTLA-4 の発現していることを明らかにした (図 2)。

頭頸部癌浸潤制御性 T 細胞のトランスクリプトーム解析で検討した。CTLA-4 高発現制御性 T 細胞は特徴的な遺伝子発現パターンを持っていた。さらに、C5a-C5aR システムが制御性 T 細胞の分化および癌組織への浸潤に関与しているという報告があることから、制御性 T 細胞をはじめ、腫瘍浸潤リンパ球における C5aR の発現をトランスクリプトーム解析で検討したところ制御性 T 細胞では発現が低かった。

これらの結果から、口腔癌の増殖に C5a-C5aR システムの関与が示唆されたが、抗腫瘍免疫応答を制御する頭頸部癌に浸潤した制御性 T 細胞においては C5aR が発現せず、分化、浸潤に関与していないことが示唆された。したがって、腫瘍特異的な C5aR 阻害剤を作成できれば副作用が少なく、高い抗腫瘍効果が得られると予想され、現在頭頸部癌で有効性が確認された免疫チェックポイント阻害剤とは作用点が異なるため、併用することで相乗効果が期待できる。

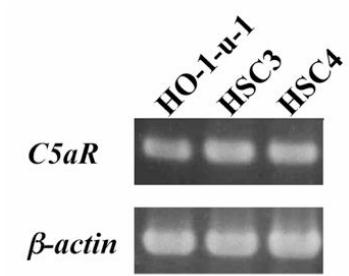


図1 口腔癌細胞株におけるC5aRの発現

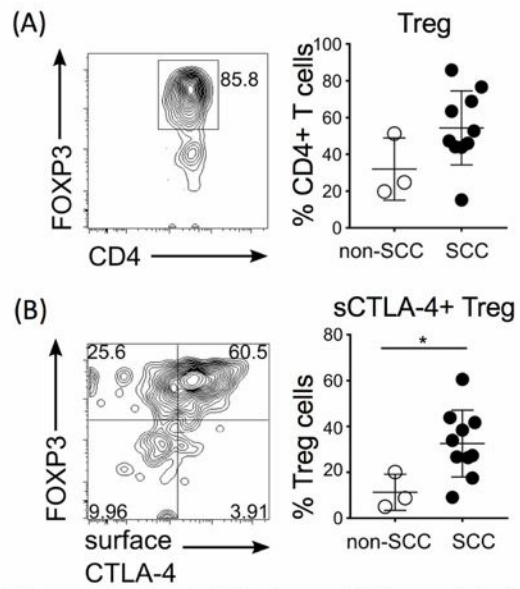


図2. 原発頭頸部癌に浸潤したCD4陽性リンパ球中のTregの比率(A)およびsurface CTLA-4陽性Tregの比率(B)。右側は扁平上皮癌と非扁平上皮癌で比較したサマリー。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ikumi K, Odanaka M, Shime H, Imai M, Osaga S, Taguchi O, Nishida E, Hemmi H, Kaisho T, Morita A, Yamazaki S	4. 巻 S0022-202
2. 論文標題 Hyperglycemia is associated with psoriatic inflammation in both humans and mice.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol.	6. 最初と最後の頁 30117-4
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2019.01.029.	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 Matoba T, Imai M, Ohkura N, Kawakita D, Ijichi K, Toyama T, Morita A, Murakami S, Sakaguchi S, Yamazaki S	4. 巻 144
2. 論文標題 Regulatory T cells expressing abundant CTLA-4 on the cell surface with a proliferative gene profile are key features of human head and neck cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Cancer	6. 最初と最後の頁 2811-2822
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ijc.32024.	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 Yamazaki S, Odanaka M, Nishioka A, Kasuya S, Shime H, Hemmi H, Imai M, Riethmacher D, Kaisho T, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A	4. 巻 200
2. 論文標題 Ultraviolet B-Induced Maturation of CD11b-Type Langerin- Dendritic Cells Controls the Expansion of Foxp3+ Regulatory T Cells in the Skin.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 119-129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.1701056.	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 該当する

〔学会発表〕 計15件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Mizuno T, Nagano F, Mizuno M, Iwata A, Takahashi K, Tsuboi N, Maruyama S, Nagamatsu T, Imai M.
2. 発表標題 Extracellular histones decrease the expression of membrane complement regulators.
3. 学会等名 27th International Complement Workshop（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamazaki S, Odanaka M, Nishioka A, Kasuya S, Shime H, Hemmi H, Imai M, Riethmacher D, Kaisho T, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita A
2. 発表標題 Foxp3+ regulatory T cells are expanded by ultraviolet B-exposed PD-L1+ skin dendritic cell expressing a unique set of genes in a CSF1-independent manner.
3. 学会等名 International Investigative Dermatology 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 的場拓磨、今井優樹、大倉永也、川北大介、伊地知圭、遠山竜也、森田明理、村上信五、坂口志文、山崎小百合
2. 発表標題 頭頸部癌における制御性T細胞の新たな特徴。
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yamazaki S, Odanaka S, Shime H, Imai M, Nishioka A, Hemmi H, Kaisho T, Ohkura N, Sakaguchi S, Morita M
2. 発表標題 Dendritic cells expressing a unique set of genes associated with immunological tolerance are specialized to expand thymus-derived Foxp3+ regulatory T cells in the ultraviolet B-exposed skin.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Odanaka M, Ikumi K, Shime H, Imai M, Taguchi O, Hemmi H, Kaisho T, Morita A, Yamazaki S
2. 発表標題 Hyperglycemia is associated with psoriatic inflammation in both humans and mice.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Matoba T, Imai M, Ohkura N, Kawakita D, Ijichi K, Toyama T, Morita A, Murakami S, Sakaguchi S, Yamazaki S
2. 発表標題 A New Feature of Regulatory T Cells in Human Head and Neck Cancer.
3. 学会等名 第47回日本免疫学会総会・学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水野智博、長野文彦、水野正司、岩田歩実、高橋和男、坪井直毅、丸山彰一、今井優樹、永松 正
2. 発表標題 致死性血栓症モデルにおける膜補体制御因子の発現解析。
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック日本薬学会東海支部 合同学術大会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井優樹
2. 発表標題 補体制御によるがん免疫療法の開発
3. 学会等名 第55回日本補体学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 水野智博、長野文彦、水野正司、岩田歩実、高橋和男、坪井直毅、丸山彰一、永松 正、今井優樹
2. 発表標題 細胞外ヒストンは細胞表面のCrryおよびCD59a発現を低下させる
3. 学会等名 第55回日本補体学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今井 優樹、辻村 幸平、太田 里永子、山崎 小百合
2. 発表標題 ミエロイド系細胞における補体アナフィラトキシン受容体の発現解析
3. 学会等名 第28回日本樹状細胞研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩田歩実、水野智博、長野文彦、高橋和男、坪井直毅、丸山彰一、今井優樹、水野正司、永松 正
2. 発表標題 細胞外ヒストンは細胞表面の膜補体制御因子 (CD59a) 発現を低下させる
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤亜美、水野智博、長野文彦、岩田歩実、余吾菜摘、高橋和男、坪井直毅、丸山彰一、水野正司、永松 正、今井優樹
2. 発表標題 細胞外ヒストンは血小板凝集を介して、補体を活性化させる
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 太田 里永子、葛島 清隆、藤田 禎三、岡田 秀親、今井 優樹
2. 発表標題 補体活性化による腫瘍の分子標的治療薬の開発
3. 学会等名 第53回日本補体学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 水野 智博、吉岡 憲吾、水野 正司、清水 美衣、長野 文彦、奥田 知将、坪井 直毅、丸山 彰一、永松 正、今井 優樹
2. 発表標題 C5、C5aは細胞外ヒストンにより誘発された致死性血栓症を増悪する
3. 学会等名 第53回日本補体学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 真菌性腹膜炎を発症した PD 患者腹膜組織における補体制御因子の発現分布
2. 発表標題 福井聡介、多和田光洋、鈴木康弘、松川宜久、今井優樹、丸山彰一、水野正司
3. 学会等名 第53回日本補体学会
4. 発表年 2017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	太田 里永子 (Ohta Rieko) (30452460)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員 (23903)	
研究 分担者	山崎 小百合 (Yamazaki Sayuri) (70567255)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	