

令和 4 年 4 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18779

研究課題名（和文）頭頸部癌における制御性T細胞の徹底解明 新たな治療ターゲット探索への挑戦

研究課題名（英文）Unraveling regulatory T cells in head and neck cancer -The challenge to find a new target to treat-

研究代表者

的場 拓磨（Matoba, Takuma）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・助教

研究者番号：40790712

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）：頭頸部癌は口腔や咽喉頭にできる癌であるが、頭頸部癌に対する治療開発に貢献するため本研究では抗腫瘍免疫に着目した研究を行った。抗腫瘍免疫は人に生来備わっている腫瘍（癌）を排除する機構である。抗腫瘍免疫を抑制する代表的な細胞、制御性T細胞に焦点をあてて研究を行った。その結果、頭頸部癌では制御性T細胞が増加しており、さらに抑制性分子であるCTLA-4の表面発現が増えていることが明らかとなった。そしてこのような頭頸部癌における制御性T細胞の特徴がもたらされる機序を一部であるが解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

頭頸部癌は、進行例では特に、嚥下機能障害や発声機能障害など生活の質を著しく低下させる機能障害を起こす。本研究は頭頸部癌に対する治療開発に貢献することを目的としており、頭頸部癌患者様の生活の質を改善させる手立てとなる研究である。また、本研究は抗腫瘍免疫に着目した研究であり、近年新たな癌治療の一つとして注目されている免疫チェックポイント阻害薬の効果を左右するメカニズムにつながる発見をしており、医療経済学的な意義も大きい。

研究成果の概要（英文）：Head and neck cancer is mainly located in oral cavity, pharynx or larynx. I conducted this study focused on anti-tumor immunity to contribute developing a new treatment of head and neck cancer. Anti-tumor immunity is the inherent ability to eliminate tumor such as cancer. I focused on regulatory T cells, that representative cells regulate anti-tumor immunity. In the result, I elucidated that regulatory T cells are proliferated in head and neck cancer and CTLA-4, an inhibitory molecule, is abundant on the cell surface. I found a part of the mechanism how regulatory T cells acquire such features in head and neck cancer.

研究分野：耳鼻咽喉・頭頸部外科学

キーワード：頭頸部癌 抗腫瘍免疫 制御性T細胞 CTLA-4

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は進行した状態で発見されることも多く、予後不良な症例もあるため、国内外でさまざまな治療法が開発されている。近年では抗腫瘍免疫に着目した、免疫チェックポイント阻害薬が注目を集めている。わが国でも抑制性シグナル分子である PD-1 に対する抗体が使えるようになったが、一部の症例においては効果がみられず、そのメカニズムを解明することが求められている。また、その他の免疫チェックポイント阻害薬や他の治療との組み合わせに関しても検討がなされており、どのような症例に免疫チェックポイント阻害薬が有効か、どんな組み合わせが適しているかといった研究もなされている。このような背景にもとづき、本研究では頭頸部癌における、抗腫瘍免疫のメカニズムを解明する研究を行うこととした。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、頭頸部癌において免疫担当細胞がそれぞれどのような特徴をもっているかを解析することで、抗腫瘍免疫メカニズムを解明することである。特に制御性 T 細胞 (Treg) がかわる抗腫瘍免疫の抑制について、どのような仕組みでコントロールされているのかを明らかにすることである。

## 3. 研究の方法

頭頸部癌の手術検体から、免疫担当細胞を採取し、フローサイトメトリーや RNA シークエンスを行ってフェノタイプや遺伝子の解析を行った。手術検体を物理的に破碎し緩衝液と混合してメッシュを通すことでリンパ球を採取し、凍結保存用の薬液に入れて液体窒素で保存した。実験日に解凍し、蛍光抗体に反応させ、フローサイトメトリーを行った。主に Treg に関係する分子や免疫チェックポイントである PD-1 に対する抗体を用いて、Treg のフェノタイプを解析した。また、同様の検体を用いてセルソーティングを行い、Treg や conventional T 細胞を分離し、それぞれ RNA シークエンスで遺伝子発現を解析した。

また、実臨床で経験した免疫チェックポイント阻害薬治療を行った頭頸部癌症例を後方視的に調査した。投与前の状態や投与後の反応により予後に違いがあるのかを検討した。

## 4. 研究成果

頭頸部癌の組織に浸潤する免疫担当細胞の中で、Treg に着目して検討を行ったところ、原発腫瘍や転移リンパ節において、転移のないリンパ節や乳癌の転移リンパ節と比べて Treg の割合が多かった。特に免疫抑制能が高いと言われる Fraction II に分類される Treg の割合が高く、頭頸部癌においては抗腫瘍免疫が抑制されている割合が高いと考えられた (図 1、図 2)。頭頸部癌に浸潤する Treg は、表面へ CTLA-4 という抑制性分子を発現しているものが多かった。また、RNA シークエンスを行った結果、Treg、特に CTLA-4 を細胞表面に発現している Treg において、細胞増殖に関わる遺伝子発現が増えていた。つまり、頭頸部癌の中では抑制能が高い Treg が増殖しているということが分かった。このような Treg によって抗腫瘍免疫が抑制されてしまうことで、癌が進行しやすくなったり、治療効果や予後が不良となったりするのではないかと予想されるが、TCGA のデータを用いた解析では CTLA-4 発現と予後との関連はみられなかった。

一方、臨床研究の結果では、免疫チェックポイント阻害薬治療を行った頭頸部癌症例において、以下の項目に当てはまる数が多いほど予後が良好であった。1) 投与開始時の全身状態が良いこと (Eastern Cooperative Oncology Group performance status が 0 か 1 であること)、2) 投与開始時の栄養状態が良く炎症反応が低いこと (modified Glasgow prognostic score が 0 であること)、3) 投与開始時の好酸球が多いこと、4) 投与後に何らかの免疫関連有害事象が生じていること、5) 免疫チェックポイント阻害薬に対する効果が良いこと (最良効果が partial response か complete response であること) (図 3)。投与開始時の全身状態や投与後の反応など、いずれも腫瘍微小環境と関係すると予想されるが、今後の研究でどのように関係するかを解明していきたい。

本研究では、頭頸部癌組織における免疫担当細胞の特徴の一つとして Treg に関する特徴を見出した。また、実際の症例においてどのような症例が免疫チェックポイント阻害薬治療後の予後が良いかを見出した。これらの成果は、免疫チェックポイント阻害薬を中心とした頭頸部癌に対する治療戦略の開発の一助となり、頭頸部癌治療を通じて社会に貢献できるものと考えられる。

図 1

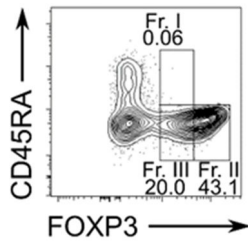


図 2

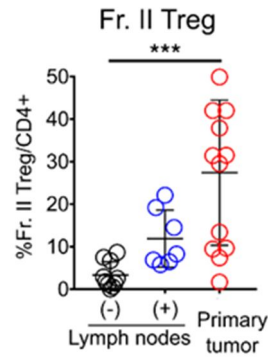
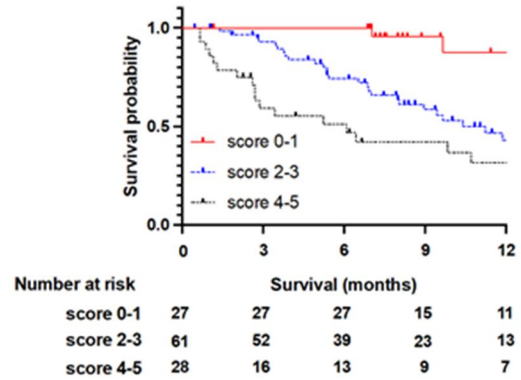


図 3



図の説明

図 1：頭頸部癌原発腫瘍に浸潤するリンパ球のフローサイトメトリーの図。CD4 陽性細胞にゲートしてある。Treg は FOXP3 の発現と CD45RA の発現で Fraction I、II、III に分けられるが、Fraction II の割合が最も多かった (43.1%)。

図 2：図 1 のように分けた Fraction II の Treg が CD4 陽性細胞のうち何%を占めるかをプロットしたもの。Lymph nodes(-)は転移のないリンパ節、Lymph nodes(+)は頭頸部癌の転移があるリンパ節、Primary tumor は頭頸部癌原発腫瘍である。原発腫瘍において有意に Fraction II の Treg の割合が高かった。

図 3：免疫チェックポイント阻害薬を使用した頭頸部癌症例の全生存率である。score 0-1 (赤線) は本文中の 1)から 5)の項目のうち当てはまるものが 4 項目もしくは 5 項目の症例。score 2-3 (青線) は当てはまるものが 2 項目もしくは 3 項目の症例。score 4-5 (黒線) は当てはまるものがないもしくは 1 項目の症例。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Minohara K, Matoba T, Kawakita D, Takano G, Oguri K, Murashima A, Nakai K, Iwaki S, Hojo W, Matsumura A, Ozaki S, Ozawa T, Harata I, Tanaka N, Maseki S, Tsuge H, Imaizumi S, Mitsuya S, Moribe K, Esaki S., Iwasaki S.	4. 巻 11
2. 論文標題 Novel Prognostic Score for recurrent or metastatic head and neck cancer patients treated with Nivolumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-021-96538-7	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 Iwaki Sho, Kawakita Daisuke, Sawabe Michi, Matoba Takuma, Takano Gaku, Oguri Keisuke, Murashima Akihiro, Minohara Kiyoshi, Tanaka Nobukazu, Tsuge Hiroshi, Imaizumi Sae, Matsumura Ayano, Masaki Ayako, Murase Takayuki, Ogawa Masaki, Iwasaki Shinichi	4. 巻 3
2. 論文標題 Long-term efficacy of weekly paclitaxel therapy in unresectable primary squamous cell carcinoma of the thyroid	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	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） 10.1016/j.anl.2021.06.005	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 Shime Hiroaki, Odanaka Mizuyu, Tsuiji Makoto, Matoba Takuma, Imai Masaki, Yasumizu Yoshiaki, Uraki Ryuta, Minohara Kiyoshi, Watanabe Maiko, Bonito Anthony John, Fukuyama Hidehiro, Ohkura Naganari, Sakaguchi Shimon, Morita Akimichi, Yamazaki Sayuri	4. 巻 117
2. 論文標題 Proenkephalin+regulatory T cells expanded by ultraviolet B exposure maintain skin homeostasis with a healing function	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 20696 ~ 20705
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2000372117	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 Nabuurs C. H., Kievit Wietske, Labbe Nilou, Leemans C. R., Smit Conrad F. G. M., Brekel Michiel W. M., Pauw Robert J., Laan Bernard F. A. M., Jansen Jeroen C., Lacko Martin, Braunius Weibel W., Morita Shinya, Wierzbicka M., Matoba Takuma, Hanai Nobuhiro, Takes Robert P., Kunst Henricus P. M.	4. 巻 42
2. 論文標題 Evaluation of the modified Pittsburgh classification for predicting the disease free survival outcome of squamous cell carcinoma of the external auditory canal	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Head & Neck	6. 最初と最後の頁 3609 ~ 3622
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hed.26424	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 Kawakita D, Murase T, Ueda K, Kano S, Tada Y, Tsukahara K, Okami K, Onitsuka T, Fujimoto Y, Matoba T, Sakurai K, Nagao T, Hanai N, Kawata R, Hato N, Nibu K, Urano M, Taguchi K, Nakaguro M, Kusafuka K, Yamamoto H, Nagao T, Inagaki H	4. 巻 25
2. 論文標題 The impact of clinicopathological factors on clinical outcomes in patients with salivary gland adenoid cystic carcinoma: a multi-institutional analysis in Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1774 ~ 1785
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01731-9	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 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 的場拓磨、川北大介、高野学、蓑原潔、北條渉、松村綾乃、岩崎真一
2. 発表標題 化学放射線療法により腫瘍随伴症候群である皮膚筋炎の改善を認めた上咽頭癌例
3. 学会等名 第45回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 的場拓磨、川北大介、高野学、村嶋明大、蓑原潔、中井一之、青山堯央、松村綾乃、小崎晃裕、岩崎真一
2. 発表標題 名古屋市立大学でニボルマブ療法を行った症例の画像所見と治療効果との関連
3. 学会等名 第31回日本頭頸部外科学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 的場 拓磨, 川北大介, 高野 学, 岩城 翔, 今泉 冴恵, 尾崎 慎哉, 小澤 泰次郎, 原田 生功磨, 欄 真一郎, 三矢 昭治, 森部 一穂, 岩崎 真一
2. 発表標題 名古屋市立大学関連施設におけるニボルマブの使用経験
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2020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 Regulatory T cells expressing abundant CTLA-4 on the cell surface with a proliferative gene profile is a new feature of human head and neck cancer
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会基礎研究会
4. 発表年 2019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
研究協力者	山崎 小百合  (Yamazaki Sayuri)		
研究協力者	今井 優樹  (Imai Masaki)		
研究協力者	志馬 寛明  (Shime Hiroaki)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	川北 大介  (Kawakita Daisuke)		
研究協力者	蓑原 潔  (Minohara Kiyoshi)		

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