

令和 5 年 5 月 30 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K10103

研究課題名（和文）PDXモデルを用いたCD44v陽性口腔がん幹細胞の特性評価と新規薬剤治療の確立

研究課題名（英文）Characterization of CD44v-positive oral cancer stem cells using PDX model and establishment of novel drug therapy

研究代表者

吉川 桃子（Yoshikawa, Momoko）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・講師（非常勤）

研究者番号：50570967

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：口腔扁平上皮癌のPDXモデルを用いて、癌の悪性度および治療抵抗性に関与するCD44v陽性癌幹細胞を特異的に標的とする薬剤での治療の可能性について検討した。CD44v陽性細胞特異的阻害剤の投与により、腫瘍縮小傾向が示され、薬剤治療後PDXのRNA-seqによる解析ではインターフェロンシグナルの低下を認めた。今後、インターフェロンシグナルと腫瘍縮小効果の関連についてさらなる解析を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔扁平上皮癌において、CD44v高発現の未分化な腫瘍では、従来の抗癌剤感受性が低く、予後が悪いことを報告してきた。申請者らが見つけたCD44v特異的阻害剤の有用性をPDXモデルで検討することで、CD44v高発現の腫瘍において標準治療を補完できる新規治療の可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Using a PDX model of oral squamous cell carcinoma, we investigated the feasibility of treatment with drugs that specifically target CD44v-positive cancer stem cells, which are responsible for tumor malignancy and resistance to therapy. Administration of a CD44v-positive cell-specific drug resulted in reduction of tumor size, and RNA-seq analysis of PDX after drug treatment showed a decrease in interferon signaling-related genes. We will further analyze the relationship between interferon signaling and tumor size reduction in the future.

研究分野：口腔がん

キーワード：口腔扁平上皮癌 CD44v PDXモデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

口腔がんを含む頭頸部がんにおける薬物療法は、従来の殺細胞性抗がん薬（プラチナ製剤や5FU）に加えて、2013年からは分子標的薬のセツキシマブが適応となり飛躍的に治療成績が向上した。さらに2017年以降、免疫チェックポイント阻害薬であるニボルマブ、ペンブロリズマブが加わり、治療法の選択肢はますます増えている。しかしながら、これらの薬剤には悪性度や薬剤感受性に基づく選択基準はなく、個々の患者においてどの薬剤をどの順序で使っていけば最適な治療効果が得られるかについてはいまだ定まっていない。また、現在の薬物療法は腫瘍縮小や生存期間の延長に寄与するものの、根治させることは困難である。特に未分化・低分化癌は既存の薬物療法に抵抗性を示し予後不良となりやすく、これら標準治療を補完できる薬剤の開発が望まれる。

このような命題に対して、申請者らはこれまでに、癌の悪性度及び治療抵抗性を規定する重要な現象である上皮間葉転換 (EMT) および幹細胞様性質に着目し、これらの現象に関わる CD44v の口腔扁平上皮癌における機能的役割の解析を進めてきた。そして、CD44v が高発現している口腔扁平上皮癌細胞では、従来の抗癌剤 (シスプラチン) 感受性が低く、その特異的阻害剤であるスルファサラジン投与が効果的であることを見出してきた

(Yoshikawa M, Asoda S, Saya H, et al. Cancer Res. 2013) (図1)。これらの研究結果を基にスルファサラジンをを用いた臨床試験を開始し、無増悪生存期間延長を示唆する結果が得られている。さらに近年、1500種の薬剤スクリーニングにより向精神薬であるピモジドが CD44v 高発現腫瘍細胞を特異的に標的とする薬剤であることを見出している (特許 W02015/115310: がん幹細胞の増殖抑制剤および細胞内活性酸素蓄積誘導剤 佐谷秀行) (図1)。

また、高分化型の腫瘍を形成する口腔扁平上皮癌細胞株を移植した担癌マウスにセツキシマブを投与したところ、実臨床と同様に腫瘍は著しく縮小するがセツキシマブ耐性となった腫瘍が残存することが確認された。さらに、この組織は CD44v 陽性細胞からなる未分化な腫瘍に変化していることがわかった (図2)。実際に口腔扁平上皮癌において、CD44v 高発現の未分化な腫瘍は予後が悪いことも確認できている (Okazaki, Yoshikawa, et al. Cancer Sci 2019)。

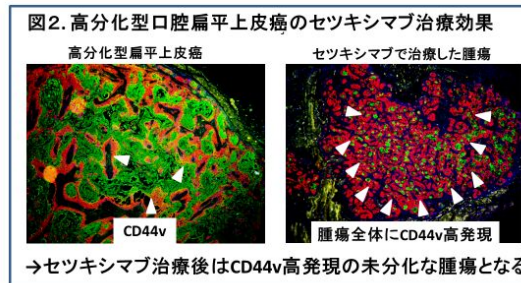
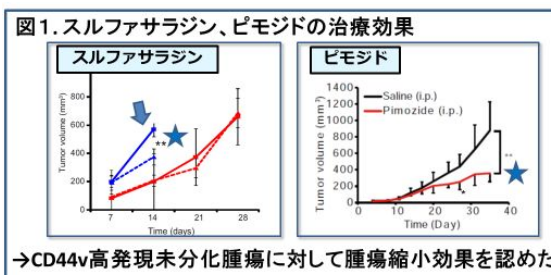
これらの結果から、腫瘍中の CD44v の発現状態により悪性度やシスプラチン・セツキシマブへの抵抗性を推測し、CD44v 陽性がん幹細胞をその特異的阻害剤であるスルファサラジンやピモジドで選択的に死滅させる新規治療の確立を目指す。

2. 研究の目的

本研究は、がん組織を直接免疫不全マウスに移植し腫瘍を再現する患者腫瘍組織移植 (patient-derived xenograft: PDX) モデルを用いて、CD44v 陽性腫瘍細胞の特異的阻害剤であるピモジドと既存の抗がん剤との併用による治療効果の検討を行うことで、標準薬物療法に抵抗性を示す難治性口腔がんへの新たな治療の可能性を見つけることを目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 口腔扁平上皮癌の臨床検体における遺伝子発現と組織学的悪性度、治療抵抗性との関連性について検討
- (2) 口腔扁平上皮癌の臨床検体からの PDX マウスの作製
- (3) PDX マウスにおける CD44v 特異的阻害剤の効果検討
- (4) PDX マウスにおける CD44v 特異的阻害剤投与後の腫瘍の解析



4. 研究成果

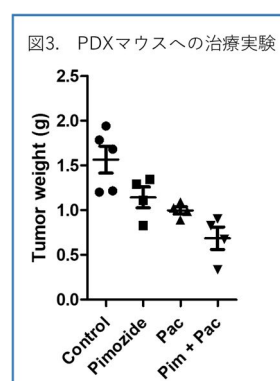
(1) 慶應義塾大学病院歯科・口腔外科で治療（外科手術、化学療法、放射線療法）を行った口腔扁平上皮癌において、遺伝子パネル検査、全エクソーム解析を行い、組織学的悪性度評価である WPOI (Worst pattern of invasion) 分類と遺伝子発現の関連性について遺伝子レベルでの検討を行った。

その結果、Actionable 変異（治療標的としての介入が期待される遺伝子変異）の数と悪性度の相関性を見出した。すなわち、Actionable 変異が多い方が臨床病理学的な悪性度を示す WPOI 分類の grade が高いことが明らかとなった。悪性度に関連する特異的な遺伝子発現については、今後検体数を増やして検討を続けていく予定である。また、Actionable 変異数が予後や治療抵抗性を規定する指標となり得るかについて検討し、Actionable 変異数や CD44v 関連分子に基づいた発現プロファイルを構築することにより、治療開始前に予後や化学放射線療法の有効性を予測できる個別化治療法の確立を目指している。

(2) 当科で手術した口腔扁平上皮癌手術検体を免疫不全マウスに移植し、腫瘍を再現する PDX モデルの作製を行った。PDX モデルは患者のがん組織の特徴を保持できるため、最も腫瘍の臨床状態に近いモデルとして腫瘍の臨床病態解析や薬剤開発への活用が期待されている。

(3) 当科で樹立した口腔扁平上皮癌の PDX モデルを用いて、CD44v 陽性癌幹細胞を特異的に標的とする薬剤であるピモジドと標準治療の併用による治療実験を行った。ピモジド単剤の治療により腫瘍縮小傾向を認め、パクリタキセルとピモジドの併用においてはより高い抗腫瘍効果が認められた（図3）。今後は、PDX モデルの種類を増やし、CD44v の発現・癌の悪性度・組織像、遺伝子変異パターンとピモジドによる抗腫瘍効果との相関についても解析を進めていく予定である。

(4) ピモジドで治療後の腫瘍について RNA-seq による解析を行ったところ、複数のインターフェロンシグナル関連の遺伝子が発現低下していることが示され、ピモジド投与によりインターフェロンシグナルが低下している可能性が示された。現在、インターフェロンシグナルと腫瘍縮小効果の関連についてさらなる解析を進めているところである。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡崎 章悟, 中野 友暉, 吉川 桃子, 相馬 智也, 筋生田 整治, 後飯塚 僚, 佐谷 秀行, 永野 修
2. 発表標題 Transcription factor FOXA1 is a negative regulator for xCT-dependent tumor formation in oral cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡崎 章悟, 吉川 桃子, 相馬 智也, 筋生田 整治, 今井 健一, 後飯塚 僚, 佐谷 秀行, 永野 修
2. 発表標題 FOXA1 suppresses oral cancer progression through inhibiting p38 activation induced by lipid-derived aldehydes
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022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	筋生田 整治 (Asoda Seiji) (80296706)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師 (32612)	
研究分担者	小澤 宏之 (Ozawa Hiroyuki) (30327621)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授 (32612)	

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 分 担 者	佐谷 秀行 (Saya Hideyuki) (80264282)	藤田医科大学・がん医療研究センター・センター長 (33916)	

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