

令和 6 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K21058

研究課題名（和文）腫瘍性骨破壊の表現型を決定する免疫学的機序

研究課題名（英文）Immunological mechanisms that determine the phenotype of neoplastic bone destruction

研究代表者

高畑 惣介（TAKAHATA, SOSUKE）

大阪大学・歯学部附属病院・医員

研究者番号：90964875

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000 円

研究成果の概要（和文）：SCCVIIの2種類の亜株を用いて低吸収型と高低吸収型の2種類の病態モデルを作成し、腫瘍組織を比較した。骨と近接する腫瘍先端領域の解析において、高低吸収型に出現する破骨細胞（TRAP陽性細胞）は低吸収型と比較して破骨細胞数が多いだけでなく細胞質が大きく、骨と隣接する部分以外にも分布した。単球由来ではない樹状細胞由来のCD80陽性TRAP陽性細胞が腫瘍先端に多数集積し、抑制型T細胞には両者の違いを認めなかったものの、樹状細胞由来の病的な破骨細胞分化に関わるとされるCD4陽性T細胞は高低吸収型で多く蓄積することを認めた。病的な骨吸収には生理状態では出現しない破骨細胞の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

歯肉癌、歯肉原発の口腔扁平上皮癌の顎骨内への進展は破骨細胞の活性化による骨吸収が主体である。破骨細胞の積極的な誘導によって癌が顎骨を穿孔性に骨吸収する「浸潤型」と破骨細胞の誘導に乏しく緩慢に骨吸収する病態「圧迫型」に大別され、歯肉癌の骨吸収型は組織学的悪性度の指標になっている。先行研究において、腫瘍細胞から産生される液性因子インターロイキン7（IL-7）が浸潤型の骨吸収の出現に寄与する可能性を見出した。また本研究において腫瘍細胞由来IL-7のみならずの免疫機構の変化の詳細が明らかになることで新たな新薬開発などの臨床応用の可能性という点において非常に意義のある研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Two subtypes of SCCVII were used to create two different pathological models, low and high bone resorption types, and tumor histology was compared. Analysis of the tumor tip area in close proximity to bone revealed that the osteoclasts (TRAP-positive cells) in the high-resorption type were not only more numerous than those in the low-resorption type, but also had larger cytoplasm, were distributed outside the bone-adjacent area, and had a greater concentration of CD80-positive TRAP-positive cells derived from dendritic cells than those derived from monocytes at the tumor tip. Although there was no difference in suppressive T cells between the two types, CD4-positive T cells, which are thought to be involved in pathological osteoclast differentiation derived from dendritic cells, accumulated more in the hyperabsorptive type. This suggests that pathological bone resorption may involve osteoclasts that do not appear under physiological conditions.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔腫瘍 歯肉癌 扁平上皮癌 RANKL 破骨細胞 IL-7

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍の骨病変は破骨細胞の活性化による骨吸収促進が主体であり、口腔扁平上皮癌も同様の機序とされる。口腔扁平上皮癌の骨病変に特徴的なのは、著しい破骨細胞誘導によって穿孔性に骨組織が破壊される「浸潤型」と、骨破壊が緩徐で破骨細胞の異常な活性化に乏しい「圧迫型」に大別される点にある。骨吸収型はその後の予後にも影響し治療戦略に重要であると考えられるものの、生物学的な理解は進んでいない。我々は骨吸収という表現型決定にリンパ球の分化・維持に重要な液性因子が重要である可能性を先行研究にて見出してきた。本研究は動物モデルの解析や患者検体を用いて、表現型出現に関連するリンパ球の挙動を明らかにする。

2. 研究の目的

悪性腫瘍の骨病変は破骨細胞の活性化による骨吸収促進が主体であり、口腔扁平上皮癌も同様の機序で骨病変が形成される。口腔扁平上皮癌の骨病変に特徴的なのは、著しい破骨細胞誘導によって穿孔性に骨組織が破壊される「浸潤型」と、骨破壊が緩徐で破骨細胞の異常な活性化に乏しい「圧迫型」に大別される点にある。しかし、浸潤型は圧迫型よりも予後不良となることから口腔扁平上皮癌の骨吸収型は治療戦略に重要であると考えられるものの、生物学的な理解は進んでいない。申請者らの先行実験では、口腔扁平上皮癌の骨病変の表現型決定にリンパ球の分化・維持に重要な液性因子が重要である可能性を見出してきた。本研究は動物モデルの解析や患者検体を用いて、口腔扁平上皮癌の骨病変の表現型出現に関連するリンパ球の挙動を明らかにする。

3. 研究の方法

「口腔扁平上皮癌の骨病変に多様な表現型があるのは腫瘍免疫機構の違いに関連する」という仮説のもと、口腔扁平上皮癌の骨病変表現型に寄与する免疫変容について動物モデルや患者検体を用いて明らかにする。そして、腫瘍細胞由来液性因子との関連を考察する。

1、浸潤型および圧迫型の骨吸収型を示すシンジェニック腫瘍モデルマウスの腫瘍および脾臓・所属リンパ節におけるT細胞サブユニットの分布を確認し、着目すべきT細胞制御機序を決定する。腫瘍より産生される液性因子がT細胞の分化に影響を与える可能性も考えられる。特定の液性因子が高発現する担癌状態での胸腺や循環中のナイーブT細胞や制御性T細胞の量と血中IL-7濃度を測定(ELISA法)することにより、循環中のT細胞量は血中の腫瘍由来液性因子に依存的なのかについても検討する。

2、腫瘍細胞由来液性因子の抑制による骨吸収抑制作用で見られる免疫機構の変容を検討する。液性因子に対する中和抗体(腹腔内投与、腫瘍への直接投与)によって骨吸収が抑制された浸潤型腫瘍モデルにおいて、腫瘍組織へのT細胞浸潤は抑制されているのかを確認する。さらに、この骨吸収抑制作用は胸腺からのT細胞供給低下に依存しているのか、RANKL陽性細胞数は減少しているのかという点も検討する。

3、顎骨に発生した口腔扁平上皮癌の臨床検体を用いた解析。倫理審査委員会の承認下で顎骨離断手術にて採取された顎骨に発生した口腔扁平上皮癌(浸潤型・圧迫型骨吸収を示す未治療の初発症例)より腫瘍細胞・T細胞を単離し、腫瘍細胞から産生される液性因子レベルやT細胞の特性を骨吸収型ごとに整理し、術前に採取した末梢血から血中IL-7濃度を測定する。このような検討により、本研究にてマウスで得られた知見が実際の口腔扁平上皮癌患者でも見られるのかを確認する。また、血中の液性因子と骨吸収型との間に関連を見出すことができた場合は同一患者から末梢血を定期的に採取し、治療効果の出現や治療後の経過によって血中の液性因子の値が連動するのかを追跡する。

4. 研究成果

マウス由来扁平上皮癌細胞株SCCVIIの2種類の亜株C3H/HeNマウス(4週齢・雌)の頭頂骨骨膜近傍に移植、1週から3週間飼育を行ったのちに低吸収型と高吸収型の2種類の病態モデルを作成し、腫瘍組織を比較した。検討にはμCT画像解析、組織学的解析、遺伝子発現解析、フローサイトメトリー解析を実施した。骨と近接する腫瘍先端領域の解析において、高吸収型に出現する破骨細胞(TRAP陽性細胞)は低吸収型と比較して破骨細胞数が多いだけでなく細胞質が大きく、骨と隣接する部分以外にも分布していた。また高吸収型には単球由来ではない樹状細胞由来のCD80陽性TRAP陽性細胞が腫瘍先端に多数集積していた。低吸収型腫瘍と比較すると高吸収型の腫瘍細胞からはIL-7が多く分泌されており、腫瘍内へのT細胞浸潤を促進させている。また、腫瘍内のT細胞(Th1)は破骨細胞周囲に集積しRANKLを発現することで破骨細胞形成を促進し、骨病変の病態形成に関与している可能性が示唆された。抑制型T細胞には両者の違いを認めなかったものの、樹状細胞由来の病的な破骨細胞分化に関わるとされるCD4陽性T細胞は高吸収型で多く蓄積することを認めた。そして、高吸収型腫瘍の腫瘍-骨界面領域においてCD4陽性RANKL陽性T細胞が多核巨細胞と接触している像を認めた。近年、病的な骨吸収には生理状態では出現し

ない破骨細胞の関与が示唆されている。本研究では扁平上皮癌の骨病変においても病的な破骨細胞による骨吸収が存在する可能性を示した。以上を日本口腔外科学会および大阪大学歯学会にて発表行った。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 養原雅人、宮川和晃、山下翔平、高畑惣介、相川友直、田中晋
2 . 発表標題 口腔扁平上皮癌の骨病変における細胞性免疫の関与
3 . 学会等名 口腔科学会
4 . 発表年 2022年～2023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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------