

令和元年5月13日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20228

研究課題名(和文) 腫瘍免疫の解析による頭頸部癌cetuximab療法の効果予測と効果増強因子の検索

研究課題名(英文) Research about effect predictor and enhancing effect factor of cetuximab therapy for head and neck cancer by analysis of tumor immunity

研究代表者

山崎 一樹 (Yamasaki, Kazuki)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：00422238

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)： Cetuximabが免疫細胞に与える影響を検討したところ、活性化した免疫細胞自体にEGFRが発現し、徐々に増加していた。CD8+T細胞やNK細胞ではEGFRの発現増加が顕著であり、また、regulatory T細胞はcetuximabとの共培養にて増幅が抑制されることが確認された。Regulatory T細胞のサブセットの割合を頭頸部癌と良性腫瘍症例で比較したところ、CD45RA-Foxp3high Tregの割合は進行期頭頸部癌での増加が確認された。CD45RA-Foxp3high Tregの割合と予後には負の傾向が認められ、治療前に割合が少ない症例の臨床経過は良好であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Cetuximabの抗腫瘍効果メカニズムにregulatory T細胞が関わっている可能性が示唆され、CD45RA-Foxp3high Tregは、腫瘍環境でCD3+T cellを抑制することで、抗腫瘍免疫を抑制していることが推測された。未だ予後不良である進行期頭頸部癌に対するcetuximab療法の効果予測や再発、予後の視標となる腫瘍マーカーとして有用である可能性が示唆された。また、これらの免疫抑制系細胞は、頭頸部癌だけではなく、他の癌種も含む癌免疫分野に新たな治療戦略を提供することが期待できる。

研究成果の概要(英文)： The effect of cetuximab for immune cells was examined. EGFR was expressed and gradually increased on the activated immune cells themselves. The increase in EGFR expression was remarkable on CD8 + T cells and NK cells and it was also confirmed that the regulatory T cells were suppressed in co-culture with cetuximab.

In comparison of subsets of regulatory T cells between head and neck cancer and benign tumor cases, it was confirmed that the percentage of CD45RA-Foxp3high Treg increased in advanced head and neck cancer. The proportion of CD45RA-Foxp3high Treg and prognosis tended to be negative, and the clinical course of cases with a low proportion before treatment was better

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：cetuximab

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1-1) 頭頸部癌に対する分子標的薬とその作用機序

頭頸部癌に対する新たな治療として分子標的薬が導入され実際の臨床効果が確認されている。国内で頭頸部癌に対する最初の分子標的薬として使用可能となったセツキシマブは、EGFR を阻害し腫瘍の増殖抑制効果を発揮するが、IgG 2 抗体であるため NK 細胞を介した細胞傷害活性 (ADCC) もその効果発現機序の一つと考えられている。癌の微小環境において NK 細胞は Fc γ RIII レセプターを発現し、IgG 抗体の Fc 部分を認識し架橋することで活性化し、細胞傷害活性を引き起こす。

(1-2) 癌における免疫抑制

抗腫瘍免疫に働く免疫細胞の多くは癌の微小環境において、免疫細胞の減少や細胞活性の抑制が引き起こされていることが報告されている。しかし、癌微小環境における制御性 T 細胞 (Regulatory T cell ; Treg) や骨髄性免疫抑制細胞 (myeloid-derived suppressor cell ; MDSC) の増加は、NK 細胞を抑制する可能性がある。我々は頭頸部癌患者において、これら免疫抑制細胞の増加と予後への影響を確認している。(未発表データ) 免疫抑制細胞は活性酸素などを出すことが知られ、酸化ストレスによって免疫細胞は機能が抑制されることが報告されている。とくに細胞傷害性 NK 細胞は、酸化ストレスに対し耐性が低くアポトーシスを起こしやすく、このような状況から癌微小環境で低下する可能性もある。抗腫瘍免疫に大きく関与する NK 細胞もその数や機能が抑制され、ADCC の作用が低下し、分子標的薬の効果を低下させている可能性がある。

(1-3) NK 細胞の細胞傷害活性と抑制分子

NK 細胞の細胞傷害活性には、さまざまな活性化分子と抑制分子により制御されている。抑制分子の一つである PD-1 は免疫チェックポイント分子として近年注目されており、PD-1 およびそのリガンドである PD-L1 の阻害抗体は、T 細胞の活性化機能を回復し、抗腫瘍効果を高める新たな分子標的薬として期待されている。NK 細胞に発現する免疫チェックポイントの阻害薬による ADCC をはじめとした抗腫瘍効果の増強は、cetuximab の効果を免疫学的に向上させる可能性が示唆される。NK 細胞を中心とした癌微小環境の免疫機能は、cetuximab の治療効果に大きく関連する可能性が示唆され、cetuximab の治療効果と、癌のステージ・分化度など癌側の因子や癌組織内での免疫細胞について解析することは大きな意義があると思われる。

2. 研究の目的

Cetuximab の効果は癌の微小環境において NK 細胞をはじめとした免疫細胞の状態、細胞数、細胞活性、NK 細胞に発現する活性化分子、免疫チェックポイント分子の発現レベル、また Treg や MDSC など免疫抑制細胞や免疫抑制性サイトカインのレベル、などさまざまな要因に影響を受け抑制されている可能性がある。これら抗腫瘍免疫や免疫抑制要因と、セツキシマブの臨床効果を解析し、セツキシマブの効果関連因子の探索、セツキシマブの効果を増強する方法の探索を行う。これにより、セツキシマブ適応患者の選択法、効果予測法を確立し、さらに新たな分子標的薬などとの複合治療法の発展を目指す。

3. 研究の方法

(3-1) 癌微小環境における免疫系細胞の探索

治療前腫瘍検体から PBMC を採取し、フローサイトメトリーにて、NK 細胞、Treg、MDSC、NKT 細胞、NK 細胞上の Fc γ RIII、NKG2D、PD-1、TIGIT などの各表面抗原を測定し、また、治療前腫瘍検体の免疫染色、ISH を行い、NK 細胞、Treg、MDSC、NKT 細胞を染色し、各々の割合と腫瘍進展度、予後、臨床経過の関係を調査する。

(3-2) 免疫細胞に対する cetuximab が及ぼす影響の探索

In vitro にて、PBMC や純化された各免疫細胞と cetuximab を共培養することにより、cetuximab が面系細胞に対して及ぼす影響、更には免疫細胞がお互いに及ぼす影響につき調査する。

(3-3) 頭頸部扁平上皮癌に対する regulatory T 細胞が及ぼす影響の探索

Regulatory T 細胞は CD45RA や Foxp3 の発現により機能的に分類され、特に CD45RA-Foxp3^{high} Treg は、CD4+CD25-T cells に対し、免疫抑制性に働く。頭頸部癌と良性腫瘍症例で、末梢血中の regulatory T 細胞のサブセットの割合を比較し、サブセットの割合と腫瘍進展度、予後、臨床経過の関係を調査する。

4. 研究成果

Cetuximab 治療症例が当初の予定より少なかったため、治療前検体から治療効果に及ぼす影響の探索は困難であった。そこで cetuximab が免疫細胞に与える影響を検討したところ、活性化した免疫細胞自体に EGFR が発現し、徐々に増加していく傾向があった。CD8+T 細胞や NK 細胞では ERFR の発現増加が顕著であり、抗腫瘍効果を発揮するはずの免疫細胞自体が cetuximab による機能抑制を受けている可能性が推測された。また、regulatory T 細胞は cetuximab との共培養にて増幅が抑制されることが確認され、cetuximab の抗腫瘍効果メカニズムに regulatory T 細胞が関わっている可能性が示唆された。Regulatory T 細胞のサブセットの割合を頭頸部癌と良性腫瘍症例で比較し、サブセットの割合と腫瘍進展度、予後、臨床経

過の関係を調査したところ、CD4+Foxp3+Treg は、頭頸部癌と良性腫瘍の間に差は認めなかったが、CD45RA-Foxp3high Treg の割合は進行期頭頸部癌での増加が確認された。CD45RA-Foxp3high Treg の割合と予後には負の傾向が認められ、治療前に割合が少ない症例の臨床経過は良好であった。今回の結果から、CD45RA-Foxp3high Treg は、腫瘍環境で CD3+T cell を抑制することで、抗腫瘍免疫を抑制していることが推測され、治療効果や再発、予後の視標となる腫瘍マーカーとして有用である可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件) **英文査読あり**

Ihara F, Sakurai D, Horinaka A, Makita Y, Fujikawa A, Sakurai T, Yamasaki K, Kunii N, Motohashi S, Nakayama T, Okamoto Y. CD45RA-Foxp3^{high} regulatory T cells have a negative impact on the clinical outcome of head and neck squamous cell carcinoma. Cancer Immunol Immunother. 2017 Oct;66(10):1275-1285.

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔〔その他〕〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。