

令和 4 年 6 月 18 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2021

課題番号：16K20615

研究課題名(和文) TAMとCSCをターゲットにした口腔癌リンパ節転移に対する新たな治療戦略

研究課題名(英文) The new treatment strategy for lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma - Targeting TAM and CSC

研究代表者

河野 通秀 (Kono, Michihide)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：00421066

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：この研究は、口腔扁平上皮癌におけるリンパ節転移の新たな治療戦略を画策することを目的として、口腔癌微小環境内におけるCD44発現ならびにcolony stimulating factor-1(CSF-1)とそのレセプターであるCSF-1Rに着目して検討を行った。結果は、CD44強発現群は、有意に局所進行とリンパ節転移および予後に関連性を認めた。しかし、CSF-1(M-CSF)/CSF-1R発現と臨床病理学的因子とのあいだには、統計学的有意差を認めなかった。口腔癌微小環境内におけるCD44発現は、腫瘍の増殖・転移を抑制する治療ターゲットになることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究は、口腔癌におけるCD44発現と、その活性因子としてcolony stimulating factor-1(CSF-1)とCSF-1Rに着目して検討を行った。結果は、CD44強発現群は、局所進行とリンパ節転移および予後と関連していた。しかし、CSF-1/CSF-1RとCD44発現には関連性を認めなかった。口腔癌微小環境内におけるCD44発現は、腫瘍の増殖・転移を抑制する治療ターゲットになることが示唆された。CD44抑制効果は、抗リンパ節転移効果、腫瘍の高悪性化および治療抵抗性を制御し、口腔癌治療全体に与える影響は非常に大きいことから、今後さらなる活性因子の検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to propose new treatment methodology for lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma (OSCC). Especially we focused on CD44, colony stimulating factor-1(CSF-1) and receptor (CSF-1R) expression in the tumor microenvironment in OSCC. Our data showed that CD44 strong expression group was significantly related to locally progressive, lymph node metastasis, and prognosis. However, it did not find the significantly relation between CSF-1 (M-CSF) / CSF-1R and clinicopathological factors. In conclusion CD44 expression in the tumor microenvironment in OSCC might be become the treatment target for prevent the locally progressive, lymph node metastasis.

研究分野：口腔がん

キーワード：口腔がん

1. 研究開始当初の背景

口腔扁平上皮癌(Oral Squamous Cell Carcinoma, OSCC)は、20-40%に頸部リンパ節転移を起こす。このリンパ節転移は、早期癌においても後発転移を来すことから、口腔癌の最大の予後不良因子として認識されている。しかし、現状では癌リンパ節転移のメカニズムは未だ不明な点が多く、これらの予測および予防は極めて困難である。それ故、口腔癌治療成績向上のためには頸部リンパ節転移のメカニズムを明らかにし、これらを予測して初期の段階で制御することが極めて重要となってくる。

われわれは、これまで OSCC におけるリンパ節転移のメカニズム解明のため、強力なリンパ管新生シグナルである VEGF-C に着目し、OSCC 細胞が腫瘍微小環境内で COX-2 を高発現することにより VEGF-C/VEGFR-3 シグナルを up-regulate しリンパ管新生を促進することを明らかにしてきた。(Kono et al. J Oral Maxillofac Surg, 2013) これらは、OSCC のリンパ節転移および予後に強く関連していた。また、これらのプロモーターとして、腫瘍に随伴して浸潤する腫瘍関連マクロファージ (Tumor Associated Macrophage, TAM) に着目し、OSCC における M2 マクロファージ発現と意義について検証するため、M2 マクロファージマーカーである CD163 陽性マクロファージについて検証したところ、高発現群で腫瘍の進展およびリンパ節転移に関連性を認め、予後不良を呈していた。

これまで腫瘍組織を構成する全てのがん細胞は、新たに腫瘍を形成する能力を有していると考えられていた。(確率論モデル) 2006年に、アメリカがん学会が CSC を定義して以来、階層性モデル論が注目されている。頭頸部扁平上皮癌でも、CD44 陽性がん細胞が CSC と認識されている。近年、CSC が CSF-1 を産生し、ニッチ内で TAM を高発現させるとともに、TAM が活性化されることにより IL-6 および MFG-E8 を発現し、これらが CSC を activate することにより、腫瘍の浸潤および転移を促進するだけでなく、治療抵抗性にも関与することが報告された。(Jinushi et al. Am J Cancer Res, 2012)

以上の背景より、リンパ節転移の制御機構として CSF-1/CSF-1R シグナルに注目した。CSF-1R は、TAM 表面に CD115 として発現しており、CSF-1 をリガンドに TAM が活性化される。癌細胞における CSF-1 の過剰発現と、予後および悪性度との関連性が報告されており、これらは TAM の過剰発現による腫瘍微小環境形成の促進によるものと推察された。

2. 研究の目的

転移のメカニズムは、未だ不明なことが多いのが現状であり、これらを予測また予防することは現状不可能である。口腔扁平上皮癌において、TAM 発現と CSC activate をターゲットにしたリンパ節転移についての研究は、ほとんど検証されていないのが現状であり、その解明は急務である。本研究は、口腔扁平上皮癌における口腔扁平上皮癌のがん幹細胞マーカーとされる CD44 発現と TAM 活性因子である colony stimulating factor-1 (CSF-1) とそれセプターである CSF-1R 発現に着目し、その発現形態や発現意義を明らかにすることであった。

3. 研究の方法

扁平上皮癌における CD44, M-CFS ならびに CSF-1R の発現形態、発現頻度、発現意義について明らかにするため、口腔扁平上皮癌の手術切除検体 41 例を用いて検証した。

切除検体に CD44, M-CFS (CSF-1) ならびに CSF-1R の免疫組織化学染色を施して、NanoZoomer®でスライド画像をデジタル化して、CD44 の発現形態や強発現部位などを 200 から 400 倍視野下で観察した。200 倍視野下での癌細胞における発現強度をホットスポット 3 視野で計測し、以下の通りにスコアー化した。

Score 0 :(-, -, -)

Score 0.5:(+, -, -)

Score 1 :(+, +, -) (++, -, -)

Score 1.5:(+, +, +) (++, +, -)

Score 2 :(+, +, +, +) (++, +, +, -)

Score 2.5:(+, +, +, +, +)

Score 3 :(+, +, +, +, +, +)

(-):発現が10%未満

(+):10~50%

(++):51%以上

発現意義の検証のため、臨床病理学的因子（腫瘍計 (T 分類)、リンパ節転移の有無、リンパ管侵襲、血管侵襲、神経周囲浸潤、分化度)との関連性についてカイ二乗検定にて検証した。また、発現強度と予後の検討を行うため、全生存率 (OS)、疾患特異的生存率 (DSS)、無病生存率 (DFS) について Kaplan-Meier 法および log-rank 検定を用いて検証した。

4. 研究成果

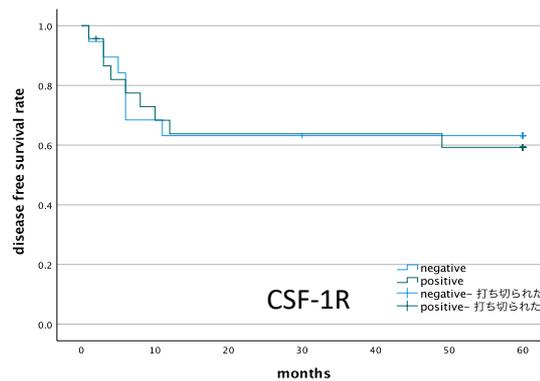
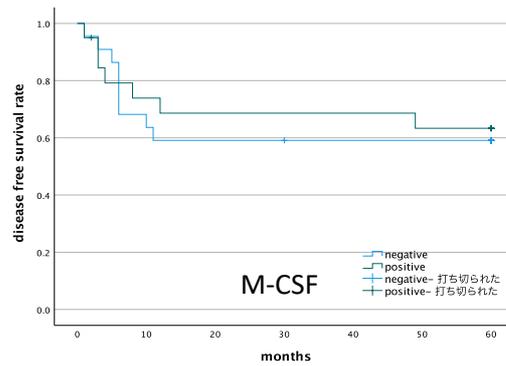
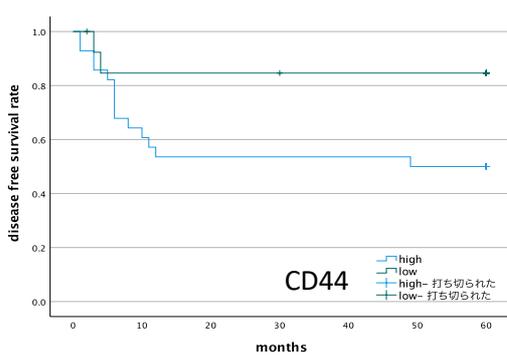
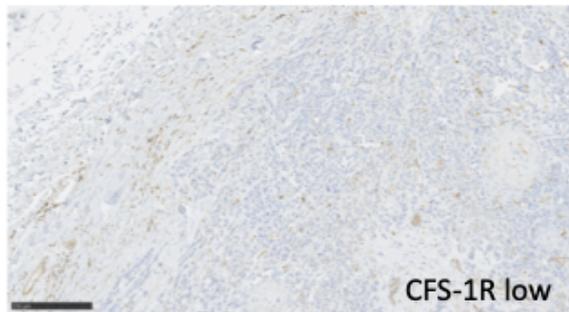
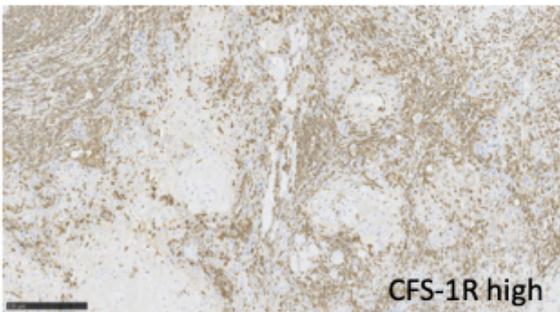
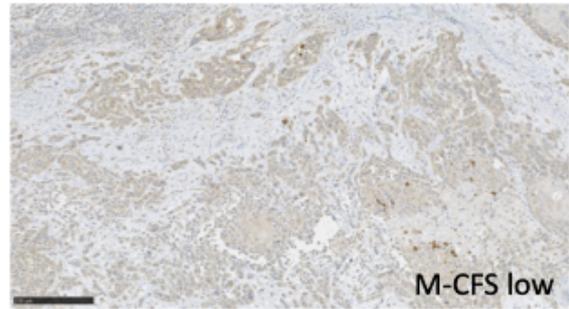
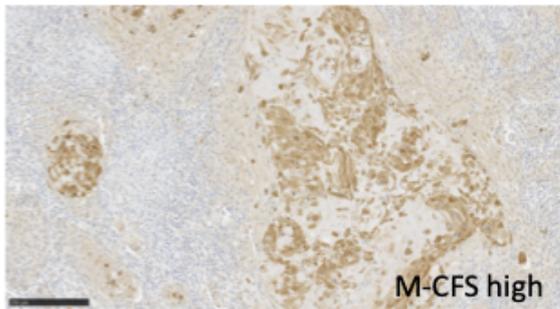
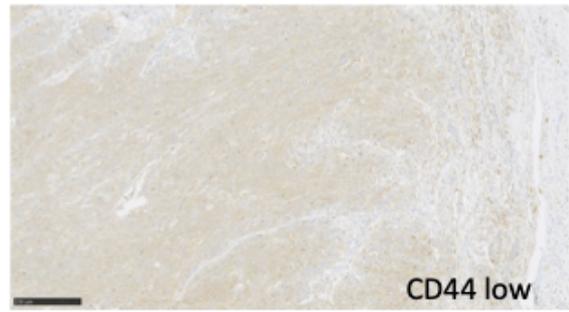
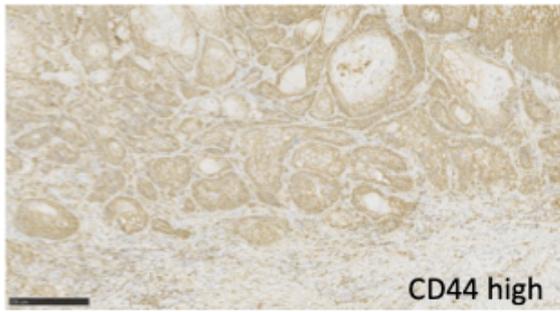
OSCC における CD44 発現

CD44 発現は、主に癌細胞の細胞膜に発現していた。癌細胞以外にも、扁平上皮の基底細胞層も強く染色されていた。スコアリング結果は、0 : 8 例、0.5 : 3 例、1 : 12 例、1.5 : 9 例、2 : 14 例、3 : 6 例であった。Score 1.5 以上を強発現群として、臨床病理学的因子との関連および予後についての検討を行った。臨床病理学的因子との関連性では、神経侵襲 (p=0.03)、YK 分類 (p=0.005)、後発リンパ節転移 (p=0.001)、リンパ節転移 (p=0.02)、局所予後不良 (再発+後発リンパ節転移) (p=0.004) に統計学的有意に関連していた。予後の検討では、5 年無病生存率 (disease free survival rate) において、CD44 高発現群 vs 低発現群、51.7% vs 91.3%、p=0.005 と有意に予後不良であった。

OSCC における M-CSF、CSF-1R 発現

M-CSF は主に癌細胞質から細胞膜に発現していた。その発現は、まばらで発現形態も限局的な印象であった。高発現群は 14%程度であった。臨床病理学的因子との関連性においては、CSF-1R 発現 (p<0.001) との関連性を認めたが、リンパ節転移や局所再発等の予後不良因子との関連性は認めなかった。予後の検討においても、有意差は認めなかった。CSF-1R は、主に間質に発現しており、全症例で発現を認めた。最浸潤部の癌巣を取り囲むように発現しており、症例によっては癌細胞に発現している症例もあった。

高発現群は20%程度であった。臨床病理学的因子との関連性においては、M-CSF発現と有意な関連性を認め、T-stage進行群が高発現を呈する傾向にあったが、統計学的な有意差は得られなかった。また、予後の検討においても、有意差は認めなかった。



口腔扁平上皮癌において CD44 は CSC マーカーとも報告されており、本研究においても、臨床病理学的因子や予後不良因子と有意に関連しており、5年無病生存率も有意に低かったことから、これらの報告と矛盾しないと考える。本研究では CSC の activate 因子として、CSF-1/CSF-1R シグナルに着目して検証したが、有意な結果は得られなかった。今後、CD44 の CSC の activate 因子についてのさらなる検証が必要と考える。CSC 抑制効果は、抗リンパ節転移効果、腫瘍の高悪性化および治療抵抗性を制御し、口腔癌治療全体に与える影響は非常に大きい。すなわち、現状で予測および回避できなかった、強力な予後不良因子とされる頸部リンパ節転移を、抑制および予防できることは、患者に与える治療侵襲を小さくできるだけでなく、口腔癌全体の予後の向上および患者の QOL 向上に寄与することとなる。CSC の activate 解析が進み、この阻害剤が治療への応用が可能となれば、口腔癌に限らず様々な癌腫での新たな治療戦略の一助になる可能性があり、広く医学の発展に貢献できるものと確信している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kono M, Satomi T, Abukawa H, Hasegawa O, Watanabe M, Chikazu D	4. 巻 75(2)
2. 論文標題 Evaluation of OK-432 Injection Therapy as Possible Primary Treatment of Intraoral Ranula.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Oral Maxillofac Surg	6. 最初と最後の頁 336-342
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.joms.2016.08.013	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 M Kono , M Watanabe , O Hasegawa , Y Kawase-Koga , D Chikazu	4. 巻 5
2. 論文標題 Less invasive approach for bone reconstruction using three-dimensional formable titanium mesh after removal of osseous lesions in the mandibular angle.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The British journal of oral & maxillofacial surgery	6. 最初と最後の頁 e127-e129
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bjoms.2020.06.028	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 Hasegawa O , Satomi T , Kono M , Watanabe M , Ikehata N , Chikazu D	4. 巻 107
2. 論文標題 Correlation between the malignancy and prognosis of oral squamous cell carcinoma in the maximum standardized uptake value.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Odontology	6. 最初と最後の頁 237-243
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10266-018-0379-9	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 -
1. 著者名 Takafumi Satomi , Michihide Kohno , On Hasagawa , Ai Enomoto , Harutsugi Abukawa , Daichi Chikazu , Maki Yoshida , Jun Matsubayashi , Toshitaka Nagao	4. 巻 105
2. 論文標題 Adenosquamous carcinoma of the tongue: clinicopathologic study and review of the literature	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ODONTOLOGY	6. 最初と最後の頁 127-135
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10266-016-0261-6	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 Watanabe M , Enomoto A , Yoneyama Y , Kohno M , Hasegawa O , Kawase-Koga Y , Satomi T , Chikazu D	4. 巻 19
2. 論文標題 Follicular lymphoid hyperplasia of the posterior maxillary site presenting as uncommon entity: a case report and review of the literature.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC oral health	6. 最初と最後の頁 243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12903-019-0936-9	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 -

1. 著者名 Watanabe M , Yoneyama Y , Hamada H , Kohno M , Hasegawa O , Takahashi H , Kawase-Koga Y , Matsuo A , Chikazu D , Kawata S , Itoh M	4. 巻 13
2. 論文標題 Usefulness of saturated salt solution-embalming method for oral surgical skills training: A new cadaveric training model for bone harvesting.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anatomical sciences education	6. 最初と最後の頁 628-635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ase.1925	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 Masako Fujioka-Kobayashi , Simon D Marjanowski , Michihide Kono , Hiroki Katagiri , Richard J Miron , Benoit Schaller	4. 巻 13
2. 論文標題 In Vitro Comparison of Macrophage Polarization and Osteoblast Differentiation Potentials between Granules and Block Forms of Deproteinized Bovine Bone Mineral.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Materials (Basel, Switzerland)	6. 最初と最後の頁 2682
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ma13122682	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 Masako Fujioka-Kobayashi , Hiroki Katagiri , Michihide Kono , Benoit Schaller , Yufeng Zhang , Anton Sculean , Richard J Miron	4. 巻 24
2. 論文標題 Improved growth factor delivery and cellular activity using concentrated platelet-rich fibrin (C-PRF) when compared with traditional injectable (i-PRF) protocols.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical oral investigations	6. 最初と最後の頁 2373-4383
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00784-020-03303-7	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 Masako Fujioka-Kobayashi , Michihide Kono , Hiroki Katagiri , Benoit Schaller , Yufeng Zhang , Anton Sculean , Richard J Miron	4. 巻 3
2. 論文標題 Histological comparison of Platelet rich fibrin clots prepared by fixed-angle versus horizontal centrifugation.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Platelets	6. 最初と最後の頁 413-419
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/09537104.2020.1754382	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 1件)

1. 発表者名 河野 通秀
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるCD44発現の検討
3. 学会等名 第36回日本口腔腫瘍学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 河野 通秀, 里見 貴史, 長谷川 温, 渡辺 正人, 池畑 直樹, 榎本 愛, 虻川 東嗣, 古賀 陽子, 近津 大地
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるマクロファージ発現様式の臨床病理学的検討
3. 学会等名 第 177回東京医科大学医学会総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 河野 通秀, 里見 貴史, 長谷川 温, 渡辺 正人, 池畑 直樹, 榎本 愛, 虻川 東嗣, 古賀 陽子, 近津 大地
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌におけるマクロファージ発現様式の臨床病理学的検討
3. 学会等名 第40回 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Michihide Kono, Takafumi Satomi, On Hasegawa, Harutsugi Abukawa, Masato Watanabe, Yoko Koga, Daichi Chikazu
2. 発表標題 The clinicopathological study of M2 macrophages expression in oral squamous cell carcinoma
3. 学会等名 The 23rd European Association for Cranio Maxillo-Facial Surgery Congress (国際学会)
4. 発表年 2016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