

令和 2 年 6 月 1 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15035

研究課題名（和文）頭頸部癌における、CD271-CDKN1C経路を標的とした治療法の開発

研究課題名（英文）Role of CD271-CDKN1C pathway in HNSCC

研究代表者

山崎 知子 (Yamazaki, Tomoko)

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター（研究所）・がん幹細胞研究部・特任研究員

研究者番号：20792493

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）：私は扁平上皮癌における癌幹細胞の役割を明らかにするために、私たちが同定した癌幹細胞マーカーであるCD271に関して検討を行った。その結果、CD271の下流にはERK経路が存在し、またCD271を標的とした抗CD271抗体による治療効果がマウスモデルで確認できた。今後はCD271陽性癌幹細胞特異的な下流シグナルの同定および抗CD271抗体の改変による治療効果の向上を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は肺癌や咽頭癌といった扁平上皮癌における癌幹細胞の解明を進めたものであり、今後新たな治療標的となることが予想される。

研究成果の概要（英文）：We examined the role of CD271, as we reported previously, in cancer stem cells. We identified ERK pathway as a downstream of CD271. We also established anti-CD271 antibody, and confirmed that CD271-targeting therapy using anti-CD271 antibody is useful at least in mice xenograft model. We will try to identify the cancer stem cell specific pathway in CD271-positive cancer stem cells and modify the anti-CD271 antibody to improve the therapeutic effect.

研究分野：頭頸部内科

キーワード：下咽頭癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌は、近年罹患率の上昇が認められている極めて悪性度の高い癌である。診断時既に進行癌（ステージ III、IV）である症例が 60%を占め、シスプラチン・5-FU を用いた化学放射線療法でも治療効果の改善に乏しい。近年、分子標的薬であるセツキシマブが頭頸部癌治療に認可されたが、満足のいく奏効率は得られていない。一方、肺癌等では抗 EGFR 抗体に加え、抗 PD-1 抗体等、分子標的薬が大きな効果を示しており、頭頸部癌においても癌種特異的な標的分子の発見が期待される。

私たちは、頭頸部癌の中でも予後および QOL の悪い下咽頭癌に焦点を当て、癌の増殖能を制御する因子のスクリーニングを行った。下咽頭癌臨床検体を用いて免疫不全マウスへの腫瘍形成能をスクリーニングした結果、神経成長因子(NGF)の受容体である CD271 の有無が、マウスにおける造腫瘍能を決定づけることを見いだした。

さらに、この CD271 高発現の症例は予後も不良であり、CD271 は下咽頭癌の悪性度を決定づける因子であることを見いだした。

私たちは、この CD271 がどのように癌の増殖能を制御しているか、その下流経路の探索を行った。まず、下咽頭癌細胞株を CD271 でノックダウンすると、RhoA を介した細胞遊走能が減少することが確認された。さらに、in vitro における増殖・マウスにおける造腫瘍能も、ほぼ完全に失われた。この時の細胞周期を解析すると、CD271 ノックダウン細胞は大部分が G₀/G₁ 期で停止していた。CD271 の下流増殖シグナル解析を行ったところ、これまでに CD271 の下流として報告のある Akt・NFκB・ERK の変動はほとんどみられなかった。このことから、申請者は下咽頭癌においては既知の増殖シグナル以外が増殖を制御すると考え、マイクロアレイによる網羅的解析を行った。その結果、G₀ 期（静止期）維持に重要な分子であり、癌抑制遺伝子として知られる CDKN1C が著しく増加していた。さらには、CD271 と CDKN1C の同時ノックダウンにより G₀ 期停止が解除されることが判明した。以上の結果から、下咽頭癌の増殖は CD271-CDKN1C のシグナル経路に大きく依存していることが判明し、この経路を阻害することができれば、有効な治療標的になると考えられた。

これまでの研究では、CD271 は、下咽頭癌以外にも、乳癌・口腔癌・悪性黒色腫において増殖に関与するという報告がある。CD271 の下流経路は、細胞増殖を促すものだけでなく、アポトーシスへ誘導するシグナルも知られており、何が主要な経路として働くかは、癌種依存性であると考えられる。また、現在まで EGFR 阻害抗体であるセツキシマブが十分な効果を上げていないことから、下咽頭癌においては EGFR による増殖シグナルの関与は限定的であると想定される。従って、CD271 による増殖制御は、下咽頭癌においては特異的かつ大きく依存している機構であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、CD271 の下流シグナルを検討するとともに、CD271 の治療標的としての可能性を探る。

3. 研究の方法

肺癌細胞株・下咽頭癌細胞株は当院の手術検体から独自に樹立した。抗 CD271 抗体はマウスハ

イブリドーマを樹立して新たに作成した。

4 . 研究成果

はじめに、肺癌細胞株を用いて、CD271 下流シグナルの解析を行った。肺癌細胞株を siRNA を用いて CD271 をノックダウンしたところ、pERK, pAKT の低下がみられた。ERK リン酸化阻害剤である U0126 を細胞に添加したところ、有意に細胞増殖の低下がみられた。肺癌手術検体を用いて免疫染色を行ったところ、CD271 と pERK の発現は共局在しており、これらのことから、肺がんにおいて CD271 の下流には pERK が存在することが分かった。

この CD271 が実際に治療標的になるのかどうか、抗 CD271 抗体を作成して、抗体治療薬の検討を進めた。作成した新規抗 CD271 抗体は、in vitro において明らかな ADCC 活性を有した。担癌マウスにヒト化抗 CD271 抗体と NK 細胞あるいは末梢血リンパ球を投与して腫瘍径の変化を計測したところ、抗体投与群では有意に腫瘍の縮小が認められた (CD271 強制発現 SP2 細胞・メラノーマ細胞株・下咽頭癌細胞株)。特に、患者由来下咽頭癌細胞の担癌マウスにおいて、CD271 陽性細胞は約 10% しかないにもかかわらず、腫瘍全体の縮小効果が得られたことは、CD271 陽性癌幹細胞を標的とした治療が可能である proof of concept が得られたと考える。

以上の結果から、CD271 の下流シグナルには ERK 経路が存在し、CD271 を標的とした抗体治療が可能であることが明らかになった。今後は、より効果の高い抗体の改変や、CD271 癌幹細胞特異的なシグナルの同定を試みる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3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 Mochizuki Mai, Nakamura Mao, Sibuya Rie, Okazaki Toshimasa, Abe Jiro, Nakagawa Takayuki, Takahashi Satomi, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Takano Atsushi, Ito Hiroyuki, Yokose Tomoyuki, Miyagi Yohei, Daigo Yataro, Sato Ikuro, Satoh Kennichi, Sugamura Kazuo, Yamaguchi Kazunori, Tamai Keiichi	4. 巻 -
2. 論文標題 CD271 is a negative prognostic factor and essential for cell proliferation in lung squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	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/s41374-019-0246-5	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 Morita Shinkichi, Mochizuki Mai, Wada Kouichi, Shibuya Rie, Nakamura Mao, Yamaguchi Kazunori, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Asada Yukinori, Matsuura Kazuto, Sugamura Kazuo, Katori Yukio, Satoh Kennichi, Tamai Keiichi	4. 巻 461
2. 論文標題 Humanized anti-CD271 monoclonal antibody exerts an anti-tumor effect by depleting cancer stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 144 ~ 152
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2019.07.011	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 Morita Shinkichi, Mochizuki Mai, Shibuya-Takahashi Rie, Nakamura-Shima Mao, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Asada Yukinori, Matsuura Kazuto, Kawamura Sadafumi, Yamaguchi Kazunori, Yasuda Jun, Sugamura Kazuo, Katori Yukio, Satoh Kennichi, Tamai Keiichi	4. 巻 39
2. 論文標題 Establishment of a Monoclonal Antibody That Recognizes Cysteine-Rich Domain 1 of Human CD271	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Monoclonal Antibodies in Immunodiagnosis and Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 6 ~ 11
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/mab.2019.0040	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0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----