

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K17203

研究課題名(和文) 口腔癌PDX同所移植モデルを用いた頸部リンパ節転移機構の解明

研究課題名(英文) Elucidation of mechanism of lymph node metastasis using orthotopic PDX oral cancer mouse model

研究代表者

杉浦 圭 (SUGIURA, Kei)

横浜市立大学・医学研究科・共同研究員

研究者番号：50771086

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)：口腔癌のリンパ節転移は患者の予後に関わるファクターである。本研究では、実際に患者の口腔癌細胞をマウスへ同所移植を行うPatient-derived-xenograft(PDX)同所移植モデルを確立し、癌本来の微小環境が再現された状態の同モデルを用いて口腔がんのリンパ節転移のメカニズムの解明を目的とした。口腔癌患者より採取した腫瘍検体を免疫不全マウスであるNOGマウスの舌側縁へ外科的に移植した同所移植モデルの確立を行い舌腫瘍の増大を確認し、その後検体採取を行い微小環境の状態を観察した所患者の口腔癌組織は一部構造を維持した状態であることが確認された。また切除により低酸素が生じることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

口腔癌治療において進行癌や頸部リンパ節転移を有する症例の予後は不良で、過去数十年においてほとんど改善は見られていない。近年は従来の画像検査に加えて、センチネルリンパ節生検などを用いた診断法の開発がなされているが、診断精度の劇的な変化は見られていない。本研究では口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移のメカニズム解析をPDXモデルを用いることでより臨床に即したがん生物学においてみられたことからより高い学術的意義が期待される。

研究成果の概要(英文)：Treatment failure in oral cancer is mainly caused by uncontrolled cervical lymph node (LN) metastasis. Since lymphatic vessel formation has similarities with vascular formation, we examined whether surgery induces hypoxia and stimulates lymphangiogenesis. The formation of tumor and lymphatic vessels were examined using orthotopic patient-derived tongue cancer mouse models with glossectomy. Growing orthotopic PDX tumor shows similar structure of cancer tissues to the original tumor. Surgery on tongue tumor induced hypoxia, followed by CD11b+ cell influx.

研究分野：口腔癌

キーワード：口腔扁平上皮癌 リンパ節転移 がん微小環境

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

口腔癌はその90%が粘膜上皮を発生母地とする扁平上皮癌であり、残りの10%は唾液腺由来の腺系癌や肉腫が占める。わが国では口腔癌は悪性腫瘍の1~2%とされており比較的数字は少ないが、罹患率は年々増加傾向にある。口腔癌の標準治療は手術であるが、特に進行症例に対する手術療法は切除範囲が広がるため、術後の摂食嚥下・構音・審美障害等によるQOLの低下をきたす。そのため、化学療法や放射線治療を組み合わせる集学的治療なども近年行われている。

口腔癌患者の予後規定因子は組織型、原発巣進展度、頸部リンパ節への転移の有無および遠隔転移の有無などが挙げられており、CTやMRIなどの画像検査を組み合わせるステージングが行われる。治療後の再発・転移に関しては、近年、骨髄由来の細胞群 (bone marrow-derived cells; BMDCs) を中心とする還流細胞ががん組織へ誘導され血管形成に関与する脈管形成 (vasculogenesis) を生じる事が示唆されている。新たな血管が形成されることにより、腫瘍へのRefeedingが行われ再増殖に寄与すると推測されている (Kioi et al, 2010; Okubo et al, 2016)。

本研究では、血管に類似した管状構造であるリンパ管に着目し、リンパ管が新たに形成されるリンパ管増生 (lymphangiogenesis) という事象に焦点を当て、腫瘍の微小環境の変化について着目し、口腔扁平上皮癌の頸部リンパ節転移のメカニズムに関して検討した。

### 2. 研究の目的

本研究では、癌本来の微小環境を再現するため Patient-derived xenografts (PDX) 同所移植マウスモデルを用いて、頸部LN転移を起こす際の微小環境変化、ならびにリンパ管増生を導き出すメカニズムを解析することを目的とした。

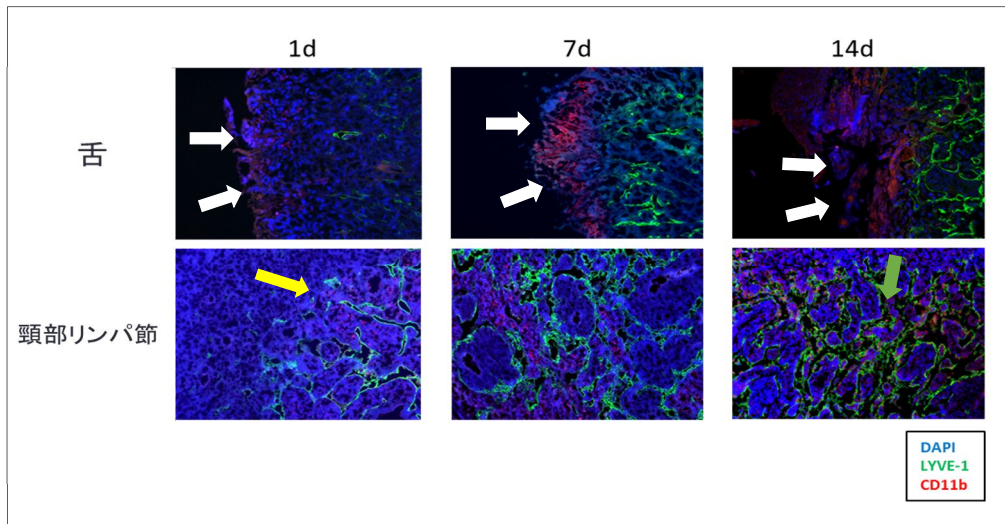
### 3. 研究の方法

まず先行実験として、ヒト舌扁平上皮癌由来で高転移性細胞株であるOSC-19をヌードマウスに同所移植した舌癌モデルを用いて実験を行った。腫瘍増殖とリンパ節転移は *in vivo* 発光イメージングシステム (IVIS Imaging System) を用いて解析した。OSC-19をマウスに接種定着後2群に分け、舌腫瘍の一部を残し舌部分切除術を行った群を舌部切群、もう一方を対照群とし経時的な腫瘍増殖と頸部リンパ節転移、また腫瘍微小環境の変化 (CD11b<sup>+</sup>細胞の流入、リンパ管内皮細胞、低酸素状態の変化) について解析を行った。その後、患者検体を直接免疫不全マウスに同所移植するPDXモデルを用いて同様の実験を行った。

### 4. 研究成果

先行実験として行ったOSC-19同所移植マウスモデルにおける頸部リンパ節転移は対照群が33%であったのに対して、舌部切群では83%と転移率の増加を認めた。舌腫瘍及び頸部リンパ節におけるCD11b<sup>+</sup>細胞については、舌部切群は対照群と比較して舌及びリンパ節内のCD11b<sup>+</sup>細胞数の増加が認められた。さらに舌部切群では切除後早期に腫瘍内の低酸素状態が増大した。経

時的解析では、舌部切群は短期的な腫瘍内の強い低酸素状態を引き起こし、その後の CD11b<sup>+</sup>細胞の舌腫瘍内への流入が誘導され、さらにリンパ管増生が認められた。頸部リンパ節においても舌部切群において CD11b<sup>+</sup>細胞の流入と、リンパ節内の髄質から髄洞への経時的な局在変化を認めた。



一方患者検体を直接免疫不全マウスに同所移植する PDX モデルでは、移植したマウスの 6 割以上で良好な増殖を認め、皮下移植に比べ有意に高い定着率を認めた。また増殖した腫瘍と患者由来の腫瘍と比較したところ、非常に類似した病理学的所見であった。同モデルにおいて舌部分切除を行った所、腫瘍内の低酸素を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sugiura, K., Nakajima, S., Kato, I., Okubo-Sato, M., Nakazawa, Y., Mitsudo, K. & Kioi, M.	4. 巻 40
2. 論文標題 Hypoxia and CD11b+ Cell Influx Are Strongly Associated With Lymph Node Metastasis of Oral Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6845-52
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

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

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