

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16816

研究課題名（和文）下咽頭癌幹細胞標的治療の開発

研究課題名（英文）Establishment of targeting therapy for hypopharyngeal cancer

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） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：下咽頭癌は手術の他には治療手段に乏しく、難治である。私たちのグループは、下咽頭癌においてはCD271陽性細胞が高い増殖能と造腫瘍能を持つことを明らかにしてきた。さらに、独自にヒト化抗CD271抗体を樹立し、PDX担癌マウスを用いてCD271を標的とした抗体治療を実施したところ、腫瘍縮小効果を認めた。しかし、縮小効果は完全ではなく、更なる検討が必要だと考えた。本課題では、CD271標的治療の proof of conceptをさらに蓄積するための検討を進めた。新しい抗CD271抗体を開発した。CD271の発現制御機構を明らかにした。CAR-NK細胞の作出を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CD271が下咽頭がんにおける治療標的になる可能性を検討した。今後さらに治療応用に向けて検討を続ける必要がある。

研究成果の概要（英文）：Hypopharyngeal cancer is a refractory disease with few treatment options other than surgery. Our group has shown that CD271-positive cells have high proliferative and tumorigenic potential in hypopharyngeal carcinoma. Furthermore, we established a humanized anti-CD271 antibody. We performed antibody therapy targeting CD271 using PDX mice. We found that the tumor was decreased in the antibody-treated mice. However, the tumor reduction was not enough to apply clinical use, and further experiments were required. The aim of this study is to present the proof of concept for CD271-targeted therapy. 1. We developed a new anti-CD271 antibody 2. We elucidated the mechanisms of CD271 transcription. 3. We attempted to generate CAR-NK cells.

研究分野：頭頸部内科

キーワード：下咽頭がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌に対しては、従来からシスプラチンなどの抗癌剤が使用されてきた。しかし、この治療法は特異性が低く、特に固形癌において完全寛解はほぼ期待できない。近年盛んに開発が進んでいる分子標的薬は、主に血液癌や肺腺癌・腎癌・乳癌など一部の癌に適応が限られており、頭頸部癌を含む他癌種においては未だ有望な標的薬がほとんど開発されていない。

最近、癌細胞のなかでも造腫瘍性・治療抵抗性の高い亜集団(癌幹細胞)の同定が進み、それを標的とした治療法の開発が盛んに行われている。

これまで、申請者らは頭頸部癌の中でも、特に予後の悪い下咽頭癌を用いて新規治療標的の探索を行ってきた。その結果、申請者らは、神経成長因子受容体 CD271 高発現癌細胞が、高い造腫瘍能を有することを見いだした(*PLoS One*, 013, *Sci. Rep.*, 2016)。このことから、CD271 高発現細胞を標的とすれば、癌組織全体が縮小することを期待できる。そこで、私たちは抗 CD271 抗体を独自に樹立し、ヒト化したうえで、担癌マウスに投与した。その結果、期待通り CD271 強発現細胞においては良好な腫瘍縮小効果を認めた。さらには、下咽頭癌患者由来異種移植マウス(PDX)に抗体を投与すると、CD271 陽性細胞は全体の 20%程度しかないにもかかわらず、腫瘍組織全体が縮小し、CD271 陽性細胞も減少していた。以上のことから、下咽頭癌において CD271 を標的とした治療が可能であるという proof of concept を確立した。

下咽頭癌 PDX マウスの腫瘍は縮小したが、その程度は満足出来るものではなかった。その要因として、次のようなことを考えた：

- 1 抗体とNK細胞を投与して1週間後の腫瘍組織を免疫染色で検討すると、NK細胞はほとんど検出できず、十分なADCC活性が発揮されない。
- 2 CD271陽性細胞から陰性細胞が産生されるが、その逆も生じることを確認している。
- 3 今回得られたヒト化抗体はCD271の機能阻害効果はない。
- 4 CD271陽性細胞のみを標的としているため、CD271陰性細胞にも通常の抗癌剤併用が必要である

2. 研究の目的

本申請課題では、上記を克服するために、以下の検討を推し進める：

- 1 Chimeric antigen receptor発現NK細胞の作成
- 2 CD271発現制御機構の解明
- 3 機能阻害抗CD271抗体の作成

これらにより、高い治療効果を持つ CD271 標的治療を確立する。

CD271 ががんの標的となる報告は私たちが精力的にすすめているテーマであり、実際の癌に対する抗体治療を行った報告は未だ無い。独自性は高く、学術的にも新規知見が得られる可能性が高いと考えている。

3. 研究の方法

下咽頭がん細胞株など、主に細胞株を用いて検討を進めた。

4. 研究成果

- ・ CAR-NK 細胞の樹立を試みた。NK-92 細胞に CAR を発現させ、細胞障害能を持つことを確認した。
- ・ CD271 遺伝子のプロモーター領域を同定した。そのうち、NFkB が結合する部位が特に重要であることを示した。
- ・ 新たに抗 CD271 抗体を作成した。免疫染色に利用できる抗体を得ることができた。

以上のことから、CD271 発現制御機構に対する理解が進み、さらに CD271 標的治療を実現するための知見が蓄積された。今後さらにマウスを用いた CAR-NK の応用を進める必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 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 -
1. 著者名 Imai Takayuki, Kurosawa Koreyuki, Asada Yukinori, Momma Yumiko, Takahashi Maki, Satake Naoko, Azuma Misato, Suzuki Ai, Sasaki Megumi, Morita Sinkichi, Saijo Satoshi, Fujii Keitaro, Kishimoto Kazuhiro, Yamazaki Tomoko, Goto Takahiro, Matsuura Kazuto	4. 巻 34
2. 論文標題 Enhanced recovery after surgery program involving preoperative dexamethasone administration for head and neck surgery with free tissue transfer reconstruction: Single-center prospective observational study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 197~205
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2020.04.025	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 Saijoh Satoshi, Nakamura-Shima Mao, Shibuya-Takahashi Rie, Ito Ryo, Sugawara Akira, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Asada Yukinori, Matsuura Kazuto, Iwai Wataru, Wakui Yuta, Abue Makoto, Kawamura Sadafumi, Katayose Yu, Fujimori Haruna, Mochizuki Mai, Yasuda Jun, Yamaguchi K, Sugamura K, Satoh K, Katori Y, Tamai K	4. 巻 537
2. 論文標題 Discovery of a chemical compound that suppresses expression of BEX2, a dormant cancer stem cell-related protein	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 132~139
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2020.11.022	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 Fujii Keitaro, Morita Shinkichi, Mochizuki Mai, Shibuya Takahashi Rie, Fujimori Haruna, Yamaguchi Kazunori, Abe Jiro, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Sugamura Kazuo, Yasuda Jun, Satoh Kennichi, Sato Ikuro, Saito Koyama Ryoko, Fujishima Fumiyoshi, Sasano Hironobu, Kato Yukinari, Matsuura K, Asada Y, Tamai K	4. 巻 113
2. 論文標題 Establishment of a monoclonal antibody against glycosylated CD271 specific for cancer cells in immunohistochemistry	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2878 ~ 2887
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15340	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 Nakazato Akira, Mochizuki Mai, Shibuya-Takahashi Rie, Fujimori Haruna, Fujii Keitaro, Saijoh Satoshi, Morita Shinkichi, Yamazaki Tomoko, Imai Takayuki, Sato Ikuro, Satoh Kennichi, Yamaguchi Kazunori, Sugamura Kazuo, Yasuda Jun, Matsuura Kazuto, Shojaku Hideo, Asada Yukinori, Tamai Keiichi	4. 巻 12
2. 論文標題 RELA is required for CD271 expression and stem-like characteristics in hypopharyngeal cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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/s41598-022-22736-6	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 Miyabe Shingo, Ito Shin, Sato Ikuro, Abe Jiro, Tamai Keiichi, Mochizuki Mai, Fujimori Haruna, Yamaguchi Kazunori, Shindo Norihisa, Shima Hiroshi, Yamazaki Tomoko, Abue Makoto, Okada Yoshinori, Yasuda Jun	4. 巻 14
2. 論文標題 Clinical and genomic features of non small cell lung cancer occurring in families	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Thoracic Cancer	6. 最初と最後の頁 940 ~ 952
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1759-7714.14825	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
--	---------------------------	-----------------------	----

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