

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2022

課題番号：20K23086

研究課題名(和文)腫瘍会合性マクロファージによる口腔扁平上皮癌の増殖・浸潤促進機構

研究課題名(英文)Oral Squamous Cell Carcinoma Contributes to Differentiation of Monocyte-Derived Tumor-Associated Macrophages

研究代表者

柿添 乃理子(Kakizoe, Noriko)

九州大学・歯学研究院・特別研究員

研究者番号：70876523

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：がん組織は単球を腫瘍随伴マクロファージ(TAM)へと分化・誘導することが報告されているが、その詳細についてはいまだ不明であった。口腔扁平上皮癌(OSCC)におけるTAMサブセット(CD163+、CD204+、CD206+)の局在パターンはまったく異なり、CD14+細胞上のCD206の発現はOSCC細胞株との共培養後に有意に増加した。OSCC細胞株の培地においてPAI-1およびIL-8が検出され、CD14+細胞刺激によりCD206を発現し、細胞数で正の相関を認めた。これらの結果は、OSCCによって産生されるPAI-1およびIL-8がCD206+ TAMへの分化に関わることを示唆した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で着目している腫瘍会合性マクロファージ(TAM)はがんの発症や悪性化の促進に関与していることが報告されているが、いまだその詳細については不明である。われわれは口腔扁平上皮癌(OSCC)におけるTAMの役割を明らかにしている途中段階であり、最終的には特定のTAMを標的とした新たな治療法の開発を目的としている。臨床的にOSCCは手術が第一選択であるが、口腔内は呼吸、嚥下、発音などに関係しており、術後の合併症や後遺症が問題となる。さらに研究を進めTAM抗原を標的とした新規標的分子治療が確立されれば、外科治療との併用により、治療成績の向上や合併症・後遺症の軽減につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Tumor-associated macrophages (TAMs) promote cancer cell proliferation and metastasis, but the detailed mechanisms have not been clarified. We thus examined the influence of cancer cells on the differentiation of monocytes to TAM subsets, including CD163+, CD204+, and CD206+ cells, in oral squamous cell carcinoma (OSCC).

The localization patterns of CD163+, CD204+, and CD206+ in OSCC sections were quite different. The expression of CD206 on CD14+ cells was significantly increased after the co-culture with OSCC cell lines. High concentrations of PAI-1 and IL-8 were detected in the conditioned medium of OSCC cell lines. PAI-1 and IL-8 stimulated CD14+ cells to express CD206. Moreover, there were positive correlations among the numbers of CD206+, PAI-1+, and IL-8+ cells in OSCC sections. These results suggest that PAI-1 and IL-8 produced by OSCC contribute to the differentiation of monocytes to CD206+ TAMs.

研究分野：口腔外科

キーワード：口腔扁平上皮癌(OSCC) 腫瘍会合性マクロファージ(TAM) CD206 PAI-1 IL-8

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

本研究で着目している腫瘍会合性マクロファージ(TAM)は従来の報告により、TAM細胞数の増加が癌の進展や転移に関与すると考えられている。獲得免疫により癌組織に浸潤する腫瘍浸潤リンパ球(TIL)は癌細胞が発現する IL-10 や PD-L1 発現により、その活性化が抑制されることも報告されている。一方、これらの免疫抑制分子は TAMにも発現することがマウスの研究で示唆されていることから、われわれは OSCC における TAM サブセットに注目し、口腔扁平上皮癌 (OSCC) の宿主免疫回避機構に TAM の関与があるか検索した。CD163+CD204+ TAM が IL-10 や PD-L1 を産生することにより、OSCC の周囲に浸潤している細胞傷害性 T 細胞を抑制し、腫瘍の浸潤・転移に関与することを報告した。さらに、末梢血から M2・TAM 様マクロファージに分化・誘導させる培養法を確立させ、CD206+ TAM が EGF を介して OSCC の増殖に関与していることを明らかにした。

## 2. 研究の目的

TAM の OSCC における増殖・浸潤促進機構については、TAM の特異的なマーカーが同定されていないこともあり、いまだその詳細については不明である。現在、CD163、CD204、CD206 などの M2 マクロファージのマーカーが TAM のマーカーとしても用いられており、TAM の特異的なマーカーおよびサブセットを同定することが極めて重要である。われわれは OSCC における TAM の役割を明らかにしている途中段階であり、最終的には特定の TAM を標的とした新たな治療法の開発を目的としている。

## 3. 研究の方法

OSCC 患者から採取した病変局所におけるマクロファージについて詳細な検索を行った。

1) OSCC における浸潤マクロファージの scRNA 解析および TAM の phenotype 解析

2) TAM の特異的マーカーの同定、OSCC 組織における TAM マーカーの発現と局在

3) 単離培養および機能解析(MACS 法、フローサイトメトリー、real-time PCR 法) 4)

培養マクロファージ(TAM)と OSCC の共培養(real-time PCR 法、免疫組織化学染色、蛍光二重免疫染色、フローサイトメトリー)

#### 4. 研究成果

がん組織は単球を TAM へと分化・誘導することが報告されているが、その詳細についてはいまだ不明であった。OSCC における TAM サブセット(CD163+、CD204+、CD206+)の局在パターンはまったく異なり、CD14+ 細胞上の CD206 の発現は OSCC 細胞株との共培養後に有意に増加した。液性因子の同定のため行ったサイトカインアレイにて、高発現していた IL-8、SerpineE1 に注目し、細胞免疫染色を行ったところ、OSCC 細胞株で高発現を認めた。これらのサイトカインを添加して単球を培養すると、CD206 の発現が亢進した。OSCC 組織において、これらの因子の発現を確認したところ、CD206、IL-8 および SerpineE1 陽性細胞の発現には正の相関があり、IL-8、SerpineE1 を高発現していた患者では、疾患特異的生存率では有意差はなかったものの、無病生存率では予後が悪かった。これらの結果により、OSCC によって産生された SerpineE1 および IL-8 が単球の CD206 陽性 TAM への分化を促進しており、転移・再発についての関わりについても示唆された。

臨床的に OSCC は手術が第一選択であるが、口腔内は呼吸、嚥下、発音などに関係しており、術後の合併症や後遺症が問題となる。放射線治療・化学療法も効果的であるが根治は困難であり、副作用が重篤になると、化学療法や放射線療法を中止または中断、

あるいは減量 することを余儀なくされる場合もある。

さらに研究を進め TAM 抗原を標的とした新規標的分子治療が確立されれば、外科治療との併用により、治療成績の向上や合併症・後遺症の軽減につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Kai Kazuki, Moriyama Masafumi, Haque A. S. M. Rafiul, Hattori Taichi, Chinju Akira, Hu Chen, Kubota Keigo, Miyahara Yuka, Kakizoe-Ishiguro Noriko, Kawano Shintaro, Nakamura Seiji	4. 巻 22
2. 論文標題 Oral Squamous Cell Carcinoma Contributes to Differentiation of Monocyte-Derived Tumor-Associated Macrophages via PAI-1 and IL-8 Production	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 9475 ~ 9475
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22179475	査読の有無 無
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 0件）

1. 発表者名 甲斐一希
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌による腫瘍随伴マクロファージへの分化機構についての検討
3. 学会等名 第75回日本口腔科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 甲斐一希
2. 発表標題 OSCCから産生されるIL-8とSerpinE1は腫瘍随伴マクロファージへの分化を促進する
3. 学会等名 第66回日本口腔外科学会総会・学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 甲斐一希
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌における programmed cell death 1 シグナル関連分子の発現と機能に関する研究
3. 学会等名 第39回日本口腔腫瘍学会総会・学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 甲斐一希
2. 発表標題 口腔扁平上皮癌による腫瘍随伴マクロファージへの分化機構についての検討
3. 学会等名 第75回日本口腔科学会
4. 発表年 2021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
---------	---------