

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009～2013

課題番号：21791978

研究課題名(和文)新規免疫療法の確立を目指した口腔癌患者に誘導されている多能性免疫担当細胞の解析

研究課題名(英文)The analysis of multipotential immune cells induced in oral cancer patients for development of novel immunotherapy

研究代表者

田中 香衣(TANAKA, KAE)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：20431934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：可移植性口腔扁平上皮癌担癌マウスにおいて異常増殖するMyeloid Derived Suppressor Cellsの解析を行ってきた。マウスモデルにおける同細胞の維持にはGM-CSFが必須であることを明らかにしたが、ヒト口腔扁平上皮癌では、GM-CSFの産生量に違いがある。そのため、GM-CSF産生口腔扁平上皮癌を用いてきたマウスモデルと違い、口腔癌患者において誘導される同細胞量の違いは、腫瘍細胞の産生するGM-CSF量の違いに依存する可能性があることが示唆された。現在、ヒト腫瘍細胞のGM-CSF産生量と同細胞との関連について解析しており、また同時に、B7-H3の発現確認もすすめている。

研究成果の概要(英文)：We investigated Myeloid Derived Suppressor Cells induced in tumor-bearing mice after injection with transplantable oral squamous cell carcinoma, and clarified that GM-CSF is needed to maintain these cells. But, there is difference in quantity of these cells among oral cancer patients unlike mouse model using murine oral cancer cell line producing GM-CSF, which might be depending on quantity of GM-CSF produced by human oral cancer, because there is difference in GM-CSF production individually. The analysis of the relationship between these cells and GM-CSF production is currently under investigation, concomitantly with the analysis of expression levels of B7-H3 on tumor cells in oral cancer patients.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：抗腫瘍免疫

## 1. 研究開始当初の背景

現在、口腔癌の治療に再建外科が導入されたことにより、拡大切除が可能となり、原発巣の制御に関してはよい成績が得られてきた。しかしながら、口腔癌における更なる治療成績の向上には、頸部リンパ節転移の制御が重要な課題となっており、三者併用療法に加え、従来の、結果的に患者本来が持つ免疫力を低下させてしまう治療法とは反対に位置づけられる、第4の選択肢として、免疫療法が着目されつつある。今のところ、受動的な癌抗原の能動免疫を応用した癌ワクチン療法と、抗腫瘍エフェクター細胞を誘導する細胞療法があるが、ともに画期的な治療効果を示すものは未だ確立されていない。なぜなら癌には、癌抗原性の欠如に加えて、宿主からの攻撃を逃れる免疫回避機構が数多く存在しており、今なお説明中だからである。そのため、この免疫回避機構の解明および解除は、効果的な免疫療法の確立を可能にすると考えられる。

抗腫瘍免疫療法の研究は、もともと、サイトカイン療法や LAK 療法をはじめとした、非特異的に免疫力を増強させることに焦点を当てた研究がなされてきたが、期待したほどの効果は上がらず、腫瘍特異的な免疫増強を目指したワクチン療法や樹状細胞 (DC) を用いた療法が主流となり、今も癌抗原の探索や抗原提示細胞の強化の検討が進んでいる。しかしながら、DC 療法の問題点として、DC およびその前駆体の希少性ゆえ、大量に回収することが困難であること、また、DC は極めて不均一な細胞集団であるため、抗腫瘍免疫応答を正負双方に制御しうる細胞を含んだまま使用しなければならないことがあげられる。さらに近年では、免疫学分野において、制御性 T 細胞を始めとした免疫抑制をもたらす細胞や可溶性因子、膜分子が注目され

だし、抑制メカニズムの解明が進むとともに、前述した、直接的に免疫力を増強させる方法とは違い、抑制因子を制御することで、間接的に免疫力を増強させる研究が進んできている。

今回着目した、担癌生体に異常増殖する Myeloid derived suppressor cells (MDSC) は、癌のみならず、数々のストレス・刺激に伴って増加することがマウスにおいて報告されている (Serafini P, et al. Derangement of immune responses by myeloid suppressor cells. *Cancer Immunol Immunother.* 53: 64-72, 2004.) が、その実態は複雑で、一定の見解がない。なぜならこの細胞は、周囲の環境に伴い、多様な変化を示すマルチポテンシャルな細胞であるからで、特に、GM-CSF と IL-4 存在下の DC 誘導条件下において、優れた抗原提示力を持つ DC フェノタイプにも分化可能である (Tanaka K, et al. Multipotency of CD11b<sup>high</sup>Gr-1<sup>+</sup> immature myeloid cells accumulating in oral squamous cell carcinoma-bearing mice. *Oral oncology.* 43: 586-592, 2006.)。これは、いままで報告されてきた抑制性細胞にはない特性であり、さらに、現在の DC 療法の問題点を解決しうる可能性があると同時に、サイトカイン療法の一つである GM-CSF 療法の問題点をも解決しうる可能性がある。

一方、補助刺激分子の一つである B7-H3 は、T 細胞や NK 細胞、抗原提示細胞などの免疫担当細胞のみならず、骨芽細胞、線維芽細胞や上皮細胞などの非免疫細胞にも発現が認められる。ヒトでは、肝、肺、膀胱、精巣等、さまざまな臓器での発現が認められるほか、膵臓癌、非小細胞肺癌、前立腺癌、卵巣癌などの多くの癌細胞上での発現が報告されている。B7-H3 は、IFN- $\gamma$  の産生を促すという報告もあるが、ヒトの癌細胞上の B7-H3

発現と予後との解析においても、抗腫瘍免疫増強もしくは抑制を示唆する報告が複数あって一貫しておらず、口腔癌患者における同分子発現と臨床病理学的指標との関連についても解明されていない。また、われわれは今までの研究で、MDSC の抑制メカニズムには、IFN- $\gamma$  が深く関わっていることを報告してきたが、IFN- $\gamma$  の抗腫瘍免疫における役割について、MDSC と B7-H3 経路との関連から解析されたものも未だに報告されていない。

また、この細胞が、頭頸部癌患者の末梢血にも多く存在することが報告されている (Young MR, et al. Myeloid progenitor cells mediate immune suppression in patients with head and neck cancers. *Int J Immunopharmacol.* 21: 241-252, 1999.) ことから、癌が生き延びようとして誘導する大量の免疫抑制細胞を、人為的に操作することで、大量の免疫賦活細胞に作り直して、頭頸部癌患者の新たな免疫療法として確立できる可能性を示唆している。

## 2 . 研究の目的

本研究は、口腔扁平上皮癌によって誘導され、担癌生体に異常増殖する免疫抑制細胞に着目して、口腔癌患者における免疫力低下のメカニズムを明らかにすると同時に、人為的に操作することで、抗腫瘍免疫応答を誘導させる新たな免疫細胞療法に応用する可能性について検討することを目的とする。また、口腔癌において B7-H3 が口腔癌の予後因子となりうるか、また、抗腫瘍免疫療法に応用できるか検討することを目的とする。

## 3 . 研究の方法

( 1 ) 口腔癌患者の末梢血における MDSC の存在の確認 :

患者の末梢血における MDSC を、モノクローナル抗体とフローサイトメトリーを用いて探索する。

( 2 ) 口腔癌患者の腫瘍細胞における B7-H3 発現確認 :

患者の原発腫瘍および頸部転移巣における B7-H3 の発現を、免疫染色法および RT-PCR 法により確認する。

( 3 ) 口腔癌患者の MDSC の割合 / B7-H3 発現レベルと臨床病理学的指標との関連 :

( 1 )( 2 ) で得られた結果と臨床病理学的指標、および、原発腫瘍からの各種サイトカイン産生量との関連について検討する。

## 4 . 研究成果

可移植性口腔扁平上皮癌担癌マウスにおいて異常増殖する MDSC は、CD11b<sup>high</sup>Gr-1<sup>+</sup> 細胞として解析を行ってきた。しかしながら、MDSC には特異抗原が存在せず、ヒト末梢血より同細胞を同定することは困難を極めていた。また、マウスモデルにおける同細胞の維持には GM-CSF が必須であることを明らかにしたが、ヒト口腔扁平上皮癌には、GM-CSF の産生量に違いがあることが知られている。そのため、GM-CSF 産生口腔扁平上皮癌を用いてきたマウスモデルと違い、口腔癌患者において誘導される同細胞量の違いは、腫瘍細胞の産生する GM-CSF 量に依存する可能性があることが示唆された。現在、ヒト腫瘍細胞の GM-CSF 産生量と同細胞との関連について解析しており、また同時に、B7-H3 の発現確認もすすめている。

## 5 . 主な発表論文等

( 研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線 )

〔雑誌論文〕(計3件)

田中香衣、小村 健、原田浩之、岡田憲彦、  
口腔内小唾液腺癌 45 例の臨床的検討、日本  
口腔腫瘍学会誌、査読有、24 巻、21-27 頁、  
2012 年

〔学会発表〕(計6件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

なし

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

田中 香衣 (TANAKA KAE)

東京医科歯科大学・歯学部附属病院・助教

研究者番号：20431934

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし