

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 7 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22791569

研究課題名（和文）

頭頸部扁平上皮癌に対する抗腫瘍免疫応答を賦活する新規治療薬の開発

研究課題名（英文）

Development of new therapy to activate anti-tumor immunity against head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

櫻井 大樹 (SAKURAI DAIJU)

千葉大学・大学院医学研究院・講師

研究者番号：10375636

研究成果の概要（和文）：

本研究において、頭頸部癌患者の骨髄系抑制細胞(MDSC)について探索的な検討を行った。頭頸部扁平上皮癌患者は健常者と比較し、末梢血単核球分画中に MDSC の有意な増加を認めた。末梢血単核球分画より CD15(+)の細胞を除去すると T 細胞の活性化が増強されることを確認した。また MDSC の比率と末梢血リンパ球の比率には有意な逆相関が見られ、特に T 細胞の比率と有意な逆相関が認められた。この結果から、MDSC は頭頸部癌患者の末梢血中に増加し、T 細胞を減少させるとともに活性化を抑制することで腫瘍免疫を抑制することが示唆された。MDSC をターゲットとした治療開発は、頭頸部癌患者の抑制された免疫を賦活させる新たな戦略となる可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：

In this research, we performed exploratory studies of MDSC (myeloid-derived suppressor cells) in patients with head and neck cancer. MDSC in PBMC (peripheral blood mononuclear cells) fraction increased significantly in patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) than that in healthy control. When CD15(+) MDSC was depleted from PBMC fraction, T-cell activation was enhanced. The proportion of MDSC in PBMC was negatively correlated with the proportion of lymphocytes in white blood cells. Especially, the negative correlation was found between the proportion of MDSC in PBMC and the proportion of T-cell in PBMC. Therefore it is suggested that MDSC suppress antitumor immunity by accumulation in patients with head and neck cancer and by decreasing T-cell number and suppressing T-cell activation. Development of therapies targeted to MDSC is thought to be a possible new strategy to activate antitumor immunity in patients with head and neck cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・耳鼻咽喉科学

キーワード：頭頸部癌、腫瘍免疫、免疫抑制

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部癌の進行症例においては、手術・放射線・化学療法の三者を組み合わせた治療を行っても、予後はいまだ満足いくものではない。さらに予後を改善すべく第4の治療として免疫治療が期待されたが、これまで効果は限定的であり、標準治療にはなりえていないのが現状である。免疫治療に対する抵抗性は、頭頸部癌患者における抗腫瘍免疫の抑制が大きく関与していると考えられている。これまで頭頸部癌患者のリンパ球機能が抑制されているとの報告も多くなされている (Anticancer Drugs. 2011, 22:674-81)。

近年、癌は宿主の免疫を抑制的に制御し、免疫系による排除から逃れやすい環境を構築していることが明らかになってきている。癌患者には骨髄系抑制細胞 (MDSC: myeloid-derived suppressor cells)が増加し、リンパ球機能の抑制に関わっていることが報告されてきている (Nat Rev Immunol. 2009, 9:162-74)。癌細胞は免疫の監視機構から認識され、T細胞やNK細胞などの攻撃を受けることが知られているが、癌細胞から放出される因子などによって影響を受け、制御性T細胞やMDSCなど免疫抑制性の細胞が増加し、癌を攻撃するはずの免疫系の細胞機能を抑制すると考えられている。しかし癌患者でのMDSCの報告は未だ少なく不明な点が多い。マウスではMDSCの除去により癌の増大が抑制されるとの報告もある。また消化器癌においてMDSCの増加例は予後不良であることが報告されてきている (Cancer Immunol Immunother. 2011, 60:1419-30)。

## 2. 研究の目的

頭頸部癌患者におけるMDSCについては報告が少なく、臨床的意義など未だ明らかになっていない。そこで、頭頸部癌、および頭頸部腫瘍を対象としてMDSCについて探索的な研究を行った。頭頸部癌におけるMDSCの増加の程度、免疫抑制機能、臨床所見との関連について解析を行い、免疫抑制機構の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

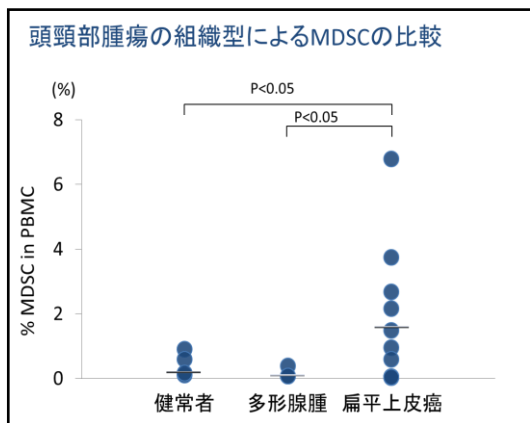
本研究に対する説明と同意取得を行い、健常者および頭頸部良性腫瘍(多型腺腫5例)、頭頸部悪性腫瘍(甲状腺乳頭癌5例、扁平上皮癌20例)で、急性の感染症や重篤な併存疾患を伴わない、未治療の症例を対象とし検討を行った。

末梢血を採取後、比重遠心法を用い単核球分画を分離し、蛍光標識特異抗体による染色を行い、フローサイトメトリーにて、HLA-DR(-)、Linage(-)、CD15(+)の細胞集団をMDSCとして、また、CD3, CD19, CD14, CD56にて、それぞれT細胞、B細胞、単球、NK細胞を同定し解析を行った。(Linage: CD3, CD19, CD14, CD56)。末梢血より白血球数、リンパ球分画の比率を解析した。

## 4. 研究成果

頭頸部扁平上皮癌症例では、健常者および頭頸部良性腫瘍である多型腺腫、また甲状腺乳頭癌症例と比較し、末梢血単核球分画中にMDSCの有意な増加を認めた( $P < 0.05$ ) (図1)。良性腫瘍の多型腺腫、甲状腺乳頭癌では有意な増加を認めなかった。

(図 1)



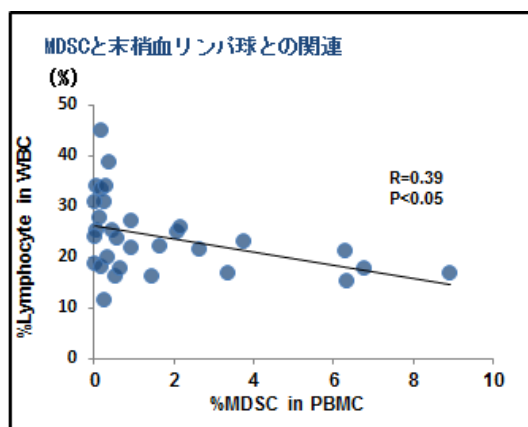
また Stage の増加により MDSC の比率の増加傾向が認められた。

末梢血単核球分画の細胞および、磁気ビーズを用いて CD15(+)細胞を除去した末梢血単核球分画の細胞を、CFSE にてラベルし、固相化した抗 CD3 抗体および抗 CD28 抗体による刺激を行い、48 時間培養したのちフローサイトメトリーにて解析を行った。その結果、CD15(+)細胞を除去した末梢血単核球分画細胞は、CD15(+)細胞を除去していない末梢血単核球分画細胞と比較し、T 細胞の活性化が増強され細胞分裂が促進することを確認した。

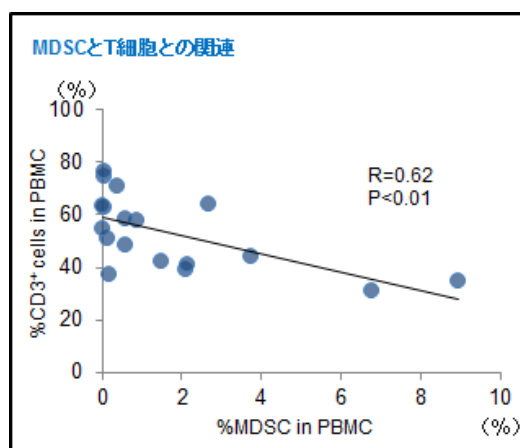
また、頭頸部癌患者においてリンパ球比率の低下がしばしば認められるが、今回、頭頸部扁平上皮癌患者において、健常者、多形腺腫、および甲状腺乳頭癌に比べ、白血球中の末梢血リンパ球の比率の低下が確認された。そこで、MDSC の比率と末梢血リンパ球の比率の相関を解析すると、両者には有意な逆相関が認められた ( $P < 0.05$ ) (図 2)。

そこで、さらに各リンパ球、T 細胞、B 細胞、NK 細胞との相関の解析を行った。これらの中では特に T 細胞の比率と、MDSC の比率に有意な逆相関が確認された ( $P < 0.01$ ) (図 3)。

(図 2)



(図 3)



さらに手術治療を行った症例において、MDSC の増加群と非増加群において、手術によって切除された腫瘍組織の一部より RNA を抽出し、micro-RNA の網羅的な発現解析を行った。その結果、MDSC の増加群と非増加群において、有意差のある micro-RNA を確認した。

今後 MDSC の増加と腫瘍免疫の抑制に関する機構を解明するうえで有用な情報になると考えられる。

MDSC は頭頸部扁平上皮癌患者の末梢血中に増加し、T 細胞を減少させるとともに活性化を抑制することで腫瘍免疫を抑制することが示唆された。MDSC をターゲットとした治療は、頭頸部癌患者の抑制された免疫を賦活

させる新たな戦略となる可能性が考えられた。

該当なし

## 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)

[学会発表] (計 3 件)

### 1) 櫻井大樹 :

頭頸部癌における腫瘍免疫抑制機構の検討  
第 30 回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会  
2012 年 2 月 17 日、滋賀県

### 2) 櫻井大樹 :

頭頸部扁平上皮癌で増加する骨髄由来抑制細胞による腫瘍免疫抑制機構の解析  
第 112 回 日本耳鼻咽喉科学会総会 学術講演会  
2011 年 5 月 19 日、京都府

### 3) 櫻井大樹 :

頭頸部癌患者における骨髄由来抑制細胞の検討  
第 29 回 日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会  
2011 年 2 月 12 日、大分県

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

櫻井 大樹 (SAKURAI DAIJU)  
千葉大学・大学院医学研究院・講師  
研究者番号 : 10375636

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者