

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：13301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K24116

研究課題名（和文）再発転移性頭頸部扁平上皮癌の微小環境での免疫抑制機構の解明と制御

研究課題名（英文）Analysis and regulation of immunosuppressive mechanisms in the microenvironment of recurrent and metastatic head and neck squamous cell carcinoma

研究代表者

小林 泰（Kobayashi, Yutaka）

金沢大学・附属病院・医員

研究者番号：10844334

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）：本研究では、再発性転移性頭頸部扁平上皮癌患者から樹立したOLC-01細胞を用いて、微小管阻害薬（エリブリン、パクリタキセル、ビンブラスチン）、分子標的薬（セツキシマブ、ニボルマブ）に対する感受性について検討を行った。その結果、エリブリンはパクリタキセルやビンブラスチンよりも感受性が高く、エリブリン処理することによりセツキシマブやニボルマブの感受性が高まることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再発性転移性頭頸部扁平上皮癌に対する薬物治療は、手術療法や放射線療法とともに集学的治療の一環として行われてきたが、近年その役割は大きくなってきている。しかし、薬物療法が有効である患者は一部に限定され、新たな治療薬の開発が望まれている。本研究で使用する薬剤はいずれも臨床での使用がすでに承認されていることから、良い結果が得られれば、迅速に新しい医師主導の臨床研究へと移行でき、新薬開発コストが大幅に削減され、臨床で使用されるまでの時間が大幅に短縮される可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, the sensitivity of microtubule inhibitors (eribulin, paclitaxel and vinblastine) and molecularly targeted drugs (cetuximab and nivolumab) was investigated in OLC-01 cells established from patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. The results showed that eribulin was more sensitive than paclitaxel and vinblastine, and that eribulin treatment increased sensitivity to cetuximab and nivolumab.

研究分野：口腔癌

キーワード：頭頸部扁平上皮癌 微小管阻害薬 分子標的薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

体内で常に生成される癌細胞は腫瘍免疫により大部分が死滅するが、癌組織には複数のがん免疫逃避機構があり、悪性度の高い癌細胞は様々な環境で免疫寛容を成立させ生存している。再発または遠隔転移を有する頭頸部扁平上皮癌：R/M SCCHN(Recurrent and/or Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck)の浸潤先端部では、僅か数個の癌細胞が周囲微小環境で免疫寛容を成立させ腫瘍免疫から逃れ生存している。画像や手術中に、この少数個の癌細胞を検出することは極めて困難なため、腫瘍切除範囲の設定を誤り、再発の可能性が高まる。よって、現在でも R/M SCCHN 患者は予後不良で根本的な治療が困難である。近年、癌免疫療法が注目され、R/M SCCHN 患者でも抗 PD-1(Programmed cell death-1)抗体の持続的な効果が示されている。しかし、有効である患者は一部に限定されることから、効果の低い患者での作用機序解明と分子標的薬とほかの薬剤の使い分けや使用順序などが課題となっている。

R/M SCCHN に対する薬物療法は手術療法、放射線療法とともに集学的治療の一環として行われてきたが、近年その役割は大きくなってきている。中でも分子標的薬の登場は大きなパラダイムシフトをもたらした。2017年3月から免疫チェックポイントの1つである PD-1 を標的とする新たな免疫療法がわが国でも R/M SCCHN に対して適応追加となり、口腔癌の治療戦略に新たな選択肢が加わった。癌細胞には免疫チェックポイントを利用して宿主の免疫の攻撃から逃れ、癌細胞自身を守ろうとする癌免疫逃避機構が複数ある。PD-1/PD-L1 経路はこの機構の1つである。癌細胞自身が PD-L1 を発現することにより T 細胞表面の PD-1 と結合し、その結果 T 細胞の活性化が抑制され宿主の免疫の攻撃から逃れている。ニボルマブは PD-1 に対するヒト型 IgG4 モノクローナル抗体であり、PD-1/PL-L1 経路によるチェックポイントを阻害することでリンパ球によるがんへの攻撃を促進する。R/M SCCHN に対する薬物治療は 5-FU/プラチナ/セツキシマブが標準的治療として認識されているが、プラチナ不応となった後の治療については治療体系が確立されていない。Checkmate141 試験においてプラチナ投与(化学放射線療法含む)6カ月以内に再発、病勢進行した R/M SCCHN 患者を対象としてニボルマブと担当医選択治療との比較が行われ、その結果 ニボルマブは主要評価項目である生存期間を有意に延長させた。しかしながら、分子標的薬とほかの薬剤の使い分けや使用順序などについて、いくつかの知見や報告があるが、本薬剤の後治療への影響については明らかでなく今後の検討課題となっている。

本研究室では、R/M SCCHN 組織での PD-L1 の発現は癌細胞で低下しているが、腫瘍細胞周囲の間質細胞のマクロファージや樹状細胞で PD-L1 の発現が亢進していることを報告している(Int J Oncol, 2017, 50: 41-48.)。さらに、in vitro で R/M SCCHN 細胞での PD-L1 の発現低下や、マクロファージや樹状細胞などの腫瘍周囲細胞での PD-L1 の発現亢進に EMT が関わることを示した(Int J Oncol, 2017, 50: 41-48.)。近年、上皮細胞の EMT において微小管が関わるということが報告され(Nat Cell Biol. 7:765-75, 2008.)、さらに微小管阻害薬のエリブリンが上皮間葉移行(EMT)から間葉上皮移行(MET)状態に表現型を逆転させることによって乳癌細胞の実験的転移を抑制することが報告された(Br J Cancer. 110:1497-505, 2014.)。さらに、R/M SCCHN 細胞はエリブリン処理により、MET が誘導されるとともに、EGFR の発現亢進が誘導されセツキシマブへの感受性が高まることを明らかにした(Oncology Reports, 2016, 36; 3139-3144.)。

2. 研究の目的

以上の背景より、本研究は R/M SCCHN の微小環境での腫瘍免疫調節機構を解明し、薬剤を用いた免疫抑制性微小環境の制御による R/M SCCHN の克服を目的とする。本研究では、R/M SCCHN 細胞に対し MET を誘導するエリブリンや、エリブリンと同様の微小管阻害薬で頭頸部癌での使用が承認されているパクリタキセル、悪性リンパ腫で使用されているビンブラスチン、MET により R/M SCCHN 細胞で感受性が高まるセツキシマブやニボルマブを用いて、各微小管阻害薬や分子標的薬の使い分けや使用順序などについて検討を行う。

3. 研究の方法

(1) 細胞株

再発・転移性頭頸部扁平上皮癌患者から樹立した浸潤様式 4D 型の OLC-01 細胞を使用した。

(2) Proliferation assay

OLC-01 細胞株を 96 穴ウェルプレートに播種し、0、0.01、0.1、1、5、10nM の微小管阻害薬(エリブリン、パクリタキセル、ビンブラスチン)や分子標的薬(セツキシマブ、ニボルマブ)を添加し、それぞれ3日間培養後、CellTiter96 Aqueous を使用して、マイクロプレートリーダー(iMark マイクロプレートリーダー: BioRad Laboratories, Inc. Hercules, CA, USA)に

て細胞数を測定、平均 IC₅₀ 値を算出した。次に、OLC-01 細胞株を別の 96 穴ウェルプレートに播種し、求めた平均 IC₅₀ 値の半量の各微小管阻害薬や各分子標的薬を添加し 24 時間培養後に、0、0.01、0.1、1、5、10nM の異なる種類の各微小管阻害薬や各分子標的薬を添加し、それぞれ 3 日間培養後、上記と同様に細胞数を測定、平均 IC₅₀ 値を算出した。

(3) 同所性異種移植研究

1 × 10⁶ 個の OLC-01 細胞を NOD-SCID マウスの舌に移植し、移植後 3、5、7 日目に尾静脈より各微小管阻害薬や各分子標的薬を投与し、10 日目に犠牲死し、舌の腫瘍の大きさを測定した。

4 . 研究成果

(1) 各微小管阻害薬や各分子標的薬の感受性

OLC-01 細胞に各微小管阻害薬および各分子標的薬を添加し、増殖抑制効果を検討した。エリブリンは OLC-01 細胞に対し高い感受性を示し、エリブリン処理することにより各分子標的薬の感受性も高まる傾向を示した。

(2) 同所性異種移植腫瘍に対する腫瘍抑制効果

OLC-01 細胞を NOD-SCID マウスに移植し、同所性異種移植腫瘍モデルを作製した。その同所性異種移植腫瘍モデルに対し、各微小管阻害薬および各分子標的薬を投与し腫瘍抑制効果の検討を行った。その結果、in vitro において感受性の高かったエリブリンにおいては、腫瘍縮小効果が最も高かった。しかし複数の薬剤を併用して腫瘍抑制効果の検討を行ったものの、実験途中でのマウスの死亡により個体数が少なくなり十分な検討ができなかった。今後は薬剤の投与濃度や投与間隔を考慮し、研究を進めていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林泰、中村博幸、川尻秀一
2. 発表標題 エリプリンの高浸潤性頭頸部癌に対する選択的高感受性の検討
3. 学会等名 第73回 NPO法人日本口腔科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林泰、中村博幸、北原寛子、川尻秀一
2. 発表標題 エリプリンの高浸潤性頭頸部癌に対する選択的高感受性の検討
3. 学会等名 第43回 日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2019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
---------	---------