

学 位 論 文 の 要 旨

学位の種類	博 士	氏 名	脇坂 理紗
学 位 論 文 題 目 Hypoxia-Targeted Immunotherapy with PD-1 Blockade in Head and Neck Cancer (頭頸部癌における低酸素環境を標的としたPD-1阻害薬併用免疫療法) 共 著 者 名 山木英聖、河野通久、井上貴博、佐藤遼介、小松田浩樹、大原賢三、小坂 朱、大栗敬幸、 長門利純、岸部 幹、中山 恒、小林博也、熊井琢美、高原 幹 Cancers 2024 Aug 29;16(17):3013. 研 究 目 的 頭頸部扁平上皮癌は世界で7番目に多い癌であり、患者の60%以上が進行癌である。手術、化学療法、放射線療法の併用が標準治療と考えられているが、進行期では治療抵抗性を示す。進行した頭頸部扁平上皮癌における局所再発のリスクは15～40%であり、遠隔転移による5年全生存率は50%未満である。頭頸部癌をはじめとする固形腫瘍では、細胞増殖と血管新生との不均衡により低酸素環境が存在し、局所進行固形腫瘍の約50～60%に低酸素領域が存在する。腫瘍内の低酸素環境は、頭頸部癌を含むいくつかの癌種において腫瘍の進行、治療抵抗性と関連している。 MutT homologue-1 (MTH1) は、酸化ストレスにより発生する酸化ヌクレオチドを除去する働きがあり、低酸素下で腫瘍細胞のゲノムの維持と生存に関与するNudixファミリーのメンバーである。MTH1は癌細胞内の活性酸素種(Reactive Oxygen Species; ROS) レベルの上昇によって活性化され、酸化ヌクレオシド三リン酸を加水分解し、DNA損傷を防ぎ、細胞死から保護する作用がある。大腸癌細胞株において低酸素ストレスはHIF-1を介してMTH1の発現を上昇させ⁽¹⁾、MTH1の過剰発現は非小細胞肺癌や乳癌では予後不良と関連する。しかし、頭頸部扁平上皮癌におけるMTH1の発現と治療標的としての有用性は明らかとなっていない。低酸素環境は腫瘍微小環境を変化させるが免疫との関連は解明されていないため、低酸素環境を標的とした免疫療法は難治性腫瘍を治療するための興味深いアプローチとなり得る。また近年、抗原特異的な免疫療法としてがんワクチン療法が注目されている⁽²⁾。本研究は、低酸素条件下での腫瘍およびT細胞の免疫学的変化を明らかとし、MTH1が低酸素環境を標的としたがんワクチン療法の有用な標的となり得るかを検討することを目的とした。			

材 料 ・ 方 法

1. 低酸素環境が免疫応答に及ぼす影響の検討

頭頸部扁平上皮癌の細胞株を用いて腫瘍上の主要組織適合遺伝子複合体(Major Histocompatibility Complex; MHC)発現やPD-L1発現の低酸素環境での変化についてフローサイトメトリーで検討を行った。CD4、CD8陽性T細胞の刺激(PMA/Ionomycin)、非刺激条件で低酸素環境での増殖能を細胞数、CCK-8 assayを用いて評価した。

2. 低酸素環境におけるMTH1の発現と頭頸部癌における予後との相関についての検討

頭頸部扁平上皮癌の細胞株における低酸素環境下でのMTH1の発現変化について、細胞内染色を用いてフローサイトメトリーで検討した。また中咽頭癌患者55例の組織標本を用いて免疫組織学的染色を行い、予後との相関について検討した。

3. がんワクチンの標的となるMTH1エピトープペプチドの同定とMTH1特異的T細胞の誘導

MTH1の全アミノ酸配列からHLA(MHC)クラスII分子と結合能が高い配列をデータベースとアルゴリズム解析にて同定し、候補となるエピトープペプチドを合成した。健常人末梢血から分離したCD4陽性T細胞を、抗原提示細胞を用いてペプチドと複数回刺激することによりMTH1特異的T細胞を誘導した。誘導したMTH1特異的T細胞とMHCが一致する腫瘍細胞株を共培養し、IFN- γ 産生をELISAで評価した。

4. 低酸素環境における誘導したMTH1特異的ヘルパーT細胞によるMTH1陽性頭頸部癌細胞株への腫瘍応答能の検討

低酸素環境で誘導したMTH1特異的ヘルパーT細胞と頭頸部癌細胞株を共培養し、腫瘍の死細胞の割合をフローサイトメトリーで測定することで細胞傷害活性を検討した。また抗PD-1抗体との併用でも同様に細胞傷害活性を検討した。

成 績

1. 低酸素環境が腫瘍と免疫細胞に及ぼす影響

低酸素環境における腫瘍上のHLA発現の変化について検討したところ、刺激条件下で腫瘍のHLAクラスII分子の発現上昇を認め、さらに低酸素環境でPD-L1の上昇が確認された。CD4、CD8陽性T細胞ともに低酸素環境でも増殖・分裂能は保たれており、低酸素環境でも免疫療法が有用である可能性が示唆された。

2. 低酸素環境におけるMTH1の発現変化と頭頸部癌における予後との相関

複数の頭頸部癌細胞株でMTH1が発現しており、低酸素環境でMTH1の上昇が確認された。免疫組織学的染色でもMTH1高発現群の方が予後不良の傾向が示され、MTH1が頭頸部癌における低酸素環境での治療標的として有用である可能性が示唆された。

3. MTH1反応性T細胞の誘導

データベースとアルゴリズム解析を用いてMTH1₄₅₋₅₁をがんワクチンの標的となる候補エピトープペプチドとして選定した。同定したエピトープペプチドを用いて健常人末梢血から複数のMTH1反応性T細胞を樹立し、ペプチド応答性サイトカインの産生を確認した。これらのT細胞とHLAが合致するMTH1陽性頭頸部癌細胞株とを共培養したところIFN- γ やGranzyme Bなどの抗腫瘍サイトカインを放出して殺傷能を示した。

4. 低酸素環境でのMTH1陽性頭頸部癌細胞株への腫瘍応答能と抗PD-1抗体との併用効果

誘導したMTH1特異的ヘルパーT細胞は低酸素環境においても頭頸部癌細胞株に対して細胞傷害活性を有しており、抗PD-1抗体との併用によりその活性が増強された。

考 案

低酸素環境は悪性腫瘍の予後不良と関連するが、低酸素環境を標的とした治療法について検討した研究は少ない。本研究によりペプチドワクチンの低酸素環境における標的抗原として、MTH1の可能性が明らかになった。低酸素環境を標的とした免疫療法は新規性が高く、免疫チェックポイント阻害剤がアジュバントとして有用である可能性が示唆された。今後の課題として、T細胞の灌流の少ない領域へのアクセスが難しいことがあげられる。低酸素腫瘍へのMTH1特異的T細胞の輸送を向上させるためには低酸素性標的ペプチドワクチンと、血管内皮細胞からT細胞遊走ケモカインを誘導するPoly-ICLCなど⁽³⁾との組み合わせを含めたさらなる研究が必要である。

結 論

頭頸部癌細胞株において低酸素環境でMTH1が上昇することが確認され、MTH1高発現は頭頸部癌における予後不良と相関することが示された。低酸素環境においても免疫細胞の増殖・分裂能は保たれており、腫瘍上のHLA発現とPD-L1の発現上昇を認めた。またMTH1を標的としたエピトープペプチドを同定し、細胞傷害活性を有するペプチド特異的ヘルパーT細胞を誘導した。MTH1特異的ヘルパーT細胞は低酸素環境においても抗腫瘍効果を示しており、MTH1ペプチドワクチンと抗PD-1抗体との併用が頭頸部癌に対する新規免疫治療として期待される。

引用文献

1. Qiu Y, Zheng H, Sun L.H., et al. Hypoxia-inducible factor-1 modulates upregulation of mutT homolog-1 in colorectal cancer. World J. Gastroenterol. 2015.
2. Kumai T, Oikawa K, Aoki N, et al. Tumor-derived TGF- β and prostaglandin E2 attenuate anti-tumor immune responses in head and neck squamous cell carcinoma treated with EGFR inhibitor. J Transl Med. 2014.
3. Kumai T, A Fan, E Celis, et al. Cancer immunotherapy: moving forward with peptide T cell vaccines. Curr Opin Immunol. 2017.

参考文献

1. Wakisaka R, Kumai T, Komatsuda H, et al. Prognostic Value of the ^{18}F -FDG PET/CT and Haematological Parameters in Head and Neck Cancer. Clin Otolaryngol. 2024.
2. Komatsuda H, Wakisaka R (co-first), Kono M, et al. Mitogen-activated protein kinase inhibition augments the T cell response against H0XB7-expressing tumor through human leukocyte antigen upregulation. Cancer Sci. 2023.
3. Yamaki H, Kono M, Wakisaka R (co-first), et al. Brachyury-targeted immunotherapy combined with gemcitabine against head and neck cancer. Cancer Immunol Immunother. 2023.
4. Kono M, Wakisaka R (co-first), Komatsuda H, et al. Immunotherapy targeting tumor-associated antigen in a mouse model of head and neck cancer. Head Neck. 2024.
5. Kono M, Wakisaka R (co-first), Kumai T, et al. Effects of early nutritional intervention by a nutritional support team for patients with head and neck cancer undergoing chemoradiotherapy or radiotherapy. Head Neck. 2021.