

## 2016～2020年度のユニットにおける研究実績（概要）

### 研究活動・共同研究の体制

本ユニットにおいては活発に共同研究が推進されており、2016～20年度においても多くの原著論文や学会発表がなされた。本項においては、2016～20年度のユニットにおける共同研究の進展について紹介する。

#### 1. 口腔がんの新規診断法の開発

がん間質細胞関連研究では、腫瘍浸潤部での CD163 陽性の腫瘍間質内マクロファージ(TAM)が VEGF-C を産生することによりリンパ管新生を促し、頸部リンパ節転移が亢進することを示唆するデータを病理組織学的検討により見出した。また、ヒト口腔扁平上皮がん由来細胞ががん間質線維芽細胞に leukemia inhibitory factor (LIF) の産生を誘導し、CAF が LIF を産生すると、それが OSCC 細胞に働き、がん細胞の進展能力が増大することを、培養細胞を用いた研究で突き止めた。口腔扁平上皮癌関連研究では、動物実験研究として重層扁平上皮特異的に Notch1 を欠損させた遺伝子改変マウスに発がん物質である 4-nitroquinoline-1-oxidase を飲水添加により投与すると、野生型マウスと比較して早期に舌および食道に扁平上皮がんが発生することを見出した。病理組織学的研究では、p53 により誘導される  $\alpha$ -L-フコース分解酵素である  $\alpha$ -L-フコシダーゼ-1 (FUCA1) と p53 を組み合わせた染色が、口腔扁平上皮がんとの鑑別に苦慮することがある粘表皮癌を扁平上皮癌と鑑別するための新規診断法になることを見出した。また、培養細胞を用いた研究では、口腔扁平上皮癌が破骨細胞前駆細胞を標的としてエクソソームの働きで破骨細胞誘導をする新たな破骨細胞誘導経路を発見し、その阻害薬も明らかにした。この成果は、口腔扁平上皮がんの顎骨進展を評価する新規診断システムを開発する端緒になると期待された。

#### 2. 口腔がん新規治療法の樹立

##### 2-1. 化学（薬物）療法

硬組織病態生化学分野では、口腔がん細胞の悪性化を規定する因子の同定を進め、これらの悪性化因子を標的とした新規治療法の開発を目指している。

がんの進展・転移は、がん細胞の上皮間葉移行 (EMT) などを介して進行するが、我々は細胞間結合因子である Claudin-1 の細胞内在化が口腔がんの進展に関与することを細胞生物学的・病理学的アプローチで明らかにした (Yamamoto, Watabe, Yokoyama et al., *Cancer Sci*, 2019: 硬組織病態生化学分野と口腔病理学分野の共同研究)。さらに、口腔がん細胞の EMT を抑制する低分子化合物 (Sakakitani, Harada, Watabe et al., *Cancer Sci*, 2020: 硬組織病態生化学分野と顎口腔外科学分野の共同研究) と Fc 融合タンパク質

(Takahashi, Watabe et al., *JBC*, 2020) を開発した。

また、がんの進展を促進するがん関連線維芽細胞(CAF)は TGF- $\beta$  による腫瘍血管内皮細胞からの内皮間葉移行 (EndMT) により形成されることがわかっている。我々は、TGF- $\beta$  による EndMT により形成される悪玉 CAF の形成が線維芽細胞増殖因子 2 (FGF2) により阻害されること、FGF2 存在下で形成された善玉 CAF が腫瘍形成を抑制することを報告した (Akatsu, Watabe et al., *Mol Oncol*, 2019)。我々は、TGF- $\beta$  による EndMT により形成される CAF の形成が TNF- $\alpha$  により亢進すること、EndMT 由来の CAF が TGF- $\beta$ 2 を産生することで口腔がん細胞の EMT を誘導することを報告した (Yoshimatsu, Watabe et al., *Cancer Sci*, 2020)。

これらの研究は本学内の共同研究 (生材研の影近教授) の中で推進され、発表した 4 報の論文の Acknowledgement では「最先端口腔科学研究推進プロジェクトによる支援」を明記した上で、本学におけるプレスリリースを行った。

## 2-2. 免疫療法

免疫チェックポイント分子阻害剤 (ICI) が種々の癌に応用されるようになったが、各 ICI によるその効果発現機構の違い、さらに PD-L1 抗体単剤で抵抗性の癌に対してどのような併用療法を施せばよいのかを、マウス扁平上皮癌モデルにおいて検討してきた。第 2 世代 ICI として期待される VISTA 抗体の効果発現機構を PD-L1 あるいは CTLA-4 抗体投与と比較検討し、VISTA 抗体は、特にエフェクター CD8<sup>+</sup> T 細胞の機能抑制に効果的であることを明らかにした (Kondo Y et al. *Oral Oncol* 57:54-60, 2016)。PD-L1 阻害剤単剤で抵抗性の SCCVII あるいは NRS-1 扁平上皮癌移植モデルで、がん微小環境にリクルートする免疫細胞の解析と併用治療法の検討を行った。がん微小環境に腫瘍随伴マクロファージ (TAM) の浸潤が多く見られる SCCVII モデルでは、レシキモド (TLR7 アゴニスト) 投与による樹状細胞やマクロファージの活性化による CTL 賦活が有効で (Nishii H et al. *Oncotarget* 9 : 13301-13312, 2018)、全身性の腫瘍随伴好中球 (TAN) の増加が著名な NR-S1 モデルでは、TAN を除去できる化学療法剤ゲムシタビンの早期投与が有効 (Tachinami H et al. *Oral Oncol* 91:21-28, 2019) であった。また、同じ SCCVII 癌モデルでも、皮膚と舌に接種するのでは、がん微小環境にリクルートする免疫細胞の分布や種類が異なることを明らかにした (Kashima Y et al. *Biochem Biophys Res Commun* 526 :218-224, 2020)。以上から、最適な免疫療法開発には、個々の癌におけるがん微小免疫環境を適切に把握することが必要と思われた。

## 2-3. 放射線治療法

口腔放射線腫瘍学分野では、当該研究期間において、主に細胞周期を可視化する Fucci とよばれるシステムを駆使した基礎研究ならびに口腔がんの放射線治療に関する臨床研究において成果が得られた。Fucci を用いた研究では、スフェロイドシステムを用いて、外層と内部に存在する細胞の放射線感受性が、スフェロイド構造に大きく依存すること、すなわち照射後の腫瘍小環境が放射線感受性に大きな影響を与えることを示した (Onozato et al., *Cancer Sci*, 2017)。さらに、最新の Fucci システムを用いて、放射線感受性の細胞周期依存性について、G1 期後期に放射線抵抗性を認めそれが S 期初期にかけて急激に感受性にシフトするというこれまで定説として知られていた知見とは異なる

現象を見出した。これは Fucci の特性を利用することで、より精度の高い細胞集団を構築できたため解像度の高い解析が可能になったことに起因する(Shimono et al., *Sci Rep*, 2020)。本研究は、令和 2 年 11 月 30 日にプレスリリースを行った。臨床研究においては、舌がんに対する Ir による小線源治療において、スぺーサーを使用した場合、これまで潰瘍などの副作用が増すとされる線量率においても問題がないことを報告した(Kaida et al., *Oral Radiol*, 2017)。また、顎口腔外科との共同研究において、頸部郭清後の術後照射において総線量が 50Gy であっても、ガイドラインで推奨されている 66Gy と同じ成績が得られることを示した(Hirai et al., *Oral Oncol*, 2020)。この結果は、本学の症例数ならではの成果である。さらに昨年より、 $\alpha$  線源を用いた全く新たな小線源治療に関する治験を開始した。これは基礎研究を含めたイスラエルのテルアビブ大学との共同研究で、今後の進展が期待される。

#### 2-4. 頭頸部がんサバイバーへの術後治療法

これまで医学部放射線科および頭頸部外科、歯学部口腔外科とともに遂行してきたがんサバイバーへの術後リハビリテーションを含む顎顔面補綴治療を、35 年間 7000 名の初診患者データベースとしてまとめ、「東京医科歯科大学の頭頸部顎顔面補綴治療患者推移」「即時顎補綴装置」について総括を行った

がんサバイバーの術後リハビリテーションに寄与できる顎顔面補綴医の絶対数の不足という課題を解決に向けて、デジタル技術を用いた顎顔面補綴治療の取り組みを推進している。ドイツフライブルグ大学およびフランスボルドー大学とともに、デジタル技術と顎顔面補綴治療に関するレビュー論文を作成し、さらに光学スキャナーを用いた顎欠損模型のデータ収集、実際の上顎欠損症例に光学印象を適用したデータの accuracy および feasibility を 3 次元画像解析にて評価を行い、地域医療などと本学が遠隔連携して行う顎顔面補綴治療の可能性を探っている。また、デジタル技術は顎顔面補綴診断や機能評価でも使い、顔面非対称性のデジタル評価法の確立、嚥下機能評価法の確立（日本補綴歯科学会課題口演賞）、5 母音で評価可能な発音機能評価法の確立を行った（日本補綴歯科学会平成 29 年度優秀論文賞受賞）。さらに、放射線科(分野長：倉林教授)の協力を得て顎補綴装置の形態にかかわるデンチャースペースの空間を可視化させ、舌欠損患者には特有のデンチャースペースを持つことを導き出した。(日本顎顔面補綴学会優秀論文賞)

また、顔面エピテーゼ用のシリコーン材料開発を進め、2015 年には医療として顔面補綴治療の実施を可能とする本邦初の顔面エピテーゼ用のシリコーン材料販売まで遂行した。(日本顎顔面補綴学会 2017 年度優秀論文賞受賞)

#### 若手育成・国際化の取り組み

##### ① 難病ユニット若手ワークショップの開催

2016 年から 2020 年まで、毎年 1 回若手研究者が最新の結果を発表し、活発な討論を行った。特筆すべきは、本ワークショップはシニア教員が開催したのではなく、若手研究者が自身で企画して運営を行っていることである。これらのワークショップにより、研究者同士のネットワークが生まれ、現在新たな共同研究が開始している。また、2018 年度からは、生体環境応答学系大学院交流セミナーとの共催で可際している。

## ② 若手研究者の海外派遣

共同研究の遂行のため、以下の若手研究者を海外に派遣し、共同研究の打ち合わせを行なうと共に、人的交流を諮った。

戒田篤志（口腔放射線腫瘍学・助教）期間：2017年2月22日～2月25日（4日間）

派遣先と理由：于冬教授（蘇州大学、中国）、腫瘍の放射線感受性に関する共同研究打ち合わせを行った。

隅田由香（顎顔面補綴学分野・講師）期間：2017年2月26日～3月2日（5日間）

派遣先と理由：Ralf Kohal 教授（フライブルグ大学、ドイツ）、東京医科歯科大学で実施されている顎顔面補綴に関する研究、臨床、治療システムを講義と実習で伝えた。

大畑 八重（口腔病理学分野・医員）期間：2018年3月11日～3月16日（6日間）

派遣先と理由：スウェーデン カロリンスカ研究所、ウプサラ大学において研究打ち合わせを行うとともに、若手研究者の訪問先研究室における留学について話し合った。

サジタ・ケリム（顎顔面補綴学分野 大学院4年生） 期間：2019年2月25日～2月27日（3日間） 派遣先：ドイツ フライブルグ大学補綴科

理由：世界の顎顔面補綴治療の底上げを図るために、国際補綴学会の後援を得て国際顎顔面補綴若手教育者 workshop を開催し、4大陸から選抜された顎顔面補綴の教育に携わる顎顔面補綴医が一同に会した。

## ③ 学部長裁量経費（個人型）への申請

歯学部においては2018年度から、若手研究者を対象とした学部長裁量経費（個人型）の公募があった。本ユニットからは下記の共同研究課題が採択され、本ユニットにおける若手研究者の育成が順調に進んでいることが示された。

2018年度

◆戒田篤志（口腔放射線腫瘍学分野）増殖ステータスに基づく標識技術を応用した口腔がんにおける放射線照射後の再発起源細胞の同定

◆高橋和樹（硬組織病態生化学分野）口腔扁平上皮がん細胞の TGF- $\beta$  による悪性化と細胞周期制御の関連性の検討

◆吉松 康裕（硬組織病態生化学分野）リンパ節内皮細胞における内皮間葉移行 (EndMT) の分子機序

2019年度

◆高橋和樹（硬組織病態生化学分野）口腔扁平上皮がん細胞の TGF- $\beta$  による悪性化と細胞周期制御の関連性の検討

2020年度

◆小林美穂（硬組織病態生化学分野）SARS-CoV-2 感染機構における微小管の役割解明と感染制御方法の開発

## ④ 難病ユニットホームページの開設

難病ユニットのホームページを開設した。本ホームページでは最先端口腔科学研究推進プロジェクトの意義、そして難病ユニットの活動を内外に発信することを目的としているが、特筆すべき点として英語版ホームページも同時に開設したため、国外にも本ユニットの活動を広く発信することが可能となっている。

日本語版 URL: <http://cellular-biochemistry-tmdu.net/idu/>

英語版 URL: <http://cellular-biochemistry-tmdu.net/idu/en/index.html>