



Title	肝がんにおけるDGK 阻害による抗腫瘍効果の機序解明に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	岡田, 尚樹
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15111号
Issue Date	2022-06-30
Doc URL	<a href="http://hdl.handle.net/2115/86899">http://hdl.handle.net/2115/86899</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2728
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	OKADA_Naoki_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 岡田 尚樹

主査 教授 小林 弘一  
審査担当者 副査 教授 近藤 亨  
副査 准教授 平田 健司

### 学位論文題名

肝がんにおける DGK $\alpha$  阻害による抗腫瘍効果の機序解明に関する研究  
(Studies on the antitumor effects of DGK $\alpha$  inhibition on hepatocellular carcinoma)

申請者は、肝細胞がん (HCC) 治療においてジアシルグリセロールキナーゼ (DGK)  $\alpha$  阻害が直接的な抗腫瘍効果と免疫賦活を介した抗腫瘍効果という 2 方向性の抗腫瘍効果を発揮すること、さらに、DGK $\alpha$  阻害剤と抗 PD-L1 抗体との併用療法が相乗的な効果を発揮することを検討した。初めに、*in vitro*において DGK $\alpha$  阻害が肝がん細胞株の増殖を抑制すること、さらにリンパ球の IL-2 産生を増加させることを示した。続いて、担がんマウス治療モデルを作成し、DGK $\alpha$  阻害剤の肝腫瘍増生抑制効果を確認した。さらに、DGK $\alpha$  阻害は担がん生体内において T リンパ球の IL-2 産生を増加させ、その結果、キラー T 細胞の IFN- $\gamma$  産生およびグランザイム B 産生を増加させ、抗腫瘍効果を発揮するといという新しいメカニズムを解明した。また、担がんマウス治療モデルの肝臓において DGK $\alpha$  阻害は T 細胞の IFN- $\gamma$  発現上昇を介し腫瘍細胞の PD-L1 発現を増加させることを示した。そして、担がんマウスモデルにおいて DGK $\alpha$  阻害剤と抗 PD-L1 抗体との併用療法の相乗的な抗腫瘍効果を示した。最後に、ヒト臨床検体を用いた検討により、DGK $\alpha$  発現と予後との相関は示されなかったが腫瘍浸潤 T 細胞に DGK $\alpha$  が高発現していることを示し、DGK $\alpha$  阻害剤の臨床応用への可能性を示した。

審査にあたり、副査の近藤教授より、本研究で使用している化合物は DGK $\alpha$  だけではなく DGK $\beta$  と DGK $\gamma$  にも阻害効果を有しているがその影響はどのように解釈しているかという質問があり、申請者は肝がん細胞において DGK $\beta$  および DGK $\gamma$  の発現量は DGK $\alpha$  と比べタンパクレベルではさらに少ないとの報告があり、さらに、がんと DGK $\beta$  および DGK $\gamma$  との関連に関する報告は少ないためこの化合物は DGK $\alpha$  阻害剤として使用できると考えると回答した。また、細胞株で DGK $\alpha$  をノックダウンした際のフェノタイプはどうかという質問があり、申請者はノックダウンでのフェノタイプは検討していないが、CRISPR-Cas9 で作成した DGK $\alpha$  ノックアウト株では細胞増殖が抑制されることを確認した。しかし、このノックアウト細胞では担がんマウス実験は行っていないと回答した。

次に、副査の平田准教授より、この治療薬は他のがん腫でも治療薬として検討しているのかという質問があり、申請者はマウス大腸がんモデルにおいても腫瘍縮小効果を確認して

いると回答した。また、動物実験までの結果と臨床検体の結果に解離があるように見えるが、現段階でこの化合物を HCC の治療薬としてさらに検討を進めるのか、別の方向性を探っていくのかどんな戦略が良いかという質問があり、申請者は今回の検討では腫瘍浸潤 T 細胞に DGK $\alpha$  が高発現であったため、今後は HCC 治療薬としてだけではなく腫瘍微小環境下の免疫細胞の DGK $\alpha$  発現に着目し検討していく必要があると回答した。さらに、肝細胞がんの発生は背景肝の炎症が契機となるがこの阻害剤で背景肝にさらに炎症が起り別の所のがんが発生する可能性はないのかという質問があり、申請者は DGK $\alpha$  ノックアウトマウスに肝炎や肝がんが発生しやすいという報告はなく、背景肝よりも腫瘍内に浸潤した免疫細胞が多くそちらに効果を発揮すると考えると回答した。

最後に、主査の小林教授より Hepa1-6 細胞における 1 型 DGK 発現はどのように測定したのかという質問があり、申請者は qPCR で行ったと回答した。それに対し、qPCR での  $\Delta\Delta CT$  法では異なる遺伝子間の発現量比較は正確には言えないと指摘された。さらに、IL-2 産生は T 細胞のみなのでミクスチャーな細胞群でもよいが、ウェスタンブロッティング法で ERK や JNK のリン酸化を検討するためには脾臓内には T 細胞が 20%程度しか含まれておらず脾臓細胞をそのまま用いない方が良いと指摘された。そして、DGK $\alpha$  阻害剤よりも抗 PD-L1 抗体の効果の方が強いように見えるがそのあたりはどうかという質問があり、申請者は抗体量を 200 $\mu\text{g}$ /匹から 100 $\mu\text{g}$ /匹に減らして検討したと回答した。また、DGK $\alpha$  阻害剤と VEGF 抗体の併用治療はどうかという質問があり、申請者は本研究では VEGF に関する検討は行っていないがパスウェイからは抗 PD-L1 抗体との併用の方が治療効果は高いと考えると回答した。それに対し、血管新生によっては必ずしもそうとも言えないと指摘された。

審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。