



Title	シスプラチン耐性膀胱がんにおけるClaspinの発現とその免疫応答性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	山田, 修平
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第15471号
Issue Date	2023-03-23
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/90028
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2789
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	YAMADA_Shuhe_i_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 山田 修平

	主査	准教授	北村 秀光
審査担当者	副査	教授	小林 弘一
	副査	准教授	外丸 詩野

学 位 論 文 題 名

シスプラチン耐性膀胱がんにおける Claspin の発現とその免疫応答性に関する研究
(Studies on expression of Claspin and its immunoreactivity in cisplatin-resistant urothelial carcinoma)

本申請者は、ヒト膀胱がん細胞株 UM-UC3 を用いてシスプラチン耐性株(CR)を作出し、RNA シークエンスと HLA リガンドーム解析を組み合わせた検討により、がん免疫治療の新規標的分子として Claspin を見出した。さらに、*in vitro* 培養系でヒト末梢血単核球より、Claspin 由来ペプチド(SLLNQPKAV)に対して特異的に反応する CD8 陽性 T を誘導し、実際にシスプラチン耐性の膀胱がん細胞に対して Claspin 特異的に細胞傷害性を有することを確認した。

まず副査の外丸詩野准教授より CR を作成する際の濃度について質問があり、申請者は実際の人に抗がん剤治療として投与するシスプラチンの体内濃度に対して、通常量の数倍であったが、高濃度の理由として、実験モデルとしてより明確な差のある耐性株を得るためと回答した。また、他の膀胱がんのシスプラチン耐性株に関する質問があり、T24 細胞株もシスプラチン耐性株であることが報告されており、今後、比較検討したいと回答した。また CR 株の形質に関する質問があり、CR は親株(WT)に比べ cancer stem-like cells / cancer initiating cells (CSCs) の特徴を有していると回答した。CR 株と WT に CDDP を添加した群での免疫応答性に関する質問あり、ELISPOT による検討では WT に CDDP を添加した群での増加率は高く、CDDP 添加による遺伝子発現誘導の関与の可能性もあると説明した。さらに臨床での検討に関する質問があり、一例ではあるが、臨床検体を使用した免疫組織化学染色法により、膀胱がん患者に対する抗がん剤投与で腫瘍組織における Claspin の発現が増えている結果を得たと回答した。

次に副査の小林弘一教授より、RNA シークエンスと HLA リガンドーム解析手法に関する質問があり、Claspin はそれぞれの解析データの上位ではなかったが TPM2 以下というフィルターを通すことで、最終的に 3 つの候補分子のなかに Claspin が含まれていたと回答し

た。また CDDP 刺激による Claspin 発現レベルに関する質問あり、申請者は、本研究でえられたデータについて、計算上、WT に CDDP を添加した群が Claspin 発現レベルは高いと回答した。また、学位論文の課題名に関する質問があり、申請者は、基礎論文とは異なる適切な課題名に訂正すると回答した。さらに、本研究で誘導された Claspin 特異的細胞傷害性 T 細胞の機能性の評価について、免疫不全マウスを使用した生体モデルによる抗腫瘍効果を確認する方策に関する助言があった。

最後に、主査の北村秀光准教授より CDDP を添加する濃度条件と Claspin の発現誘導に関する質問あり、申請者は、今後、WT に生理的な濃度で刺激した場合の Claspin 発現レベルも確認したいと回答した。また Claspin 分子の発現誘導メカニズムに関する質問あり、先行研究で Claspin の発現レベルは、細胞周期と関連が高く G2/M で高く、それ以降はユビキチンで分解される報告があるが、詳細発現誘導のメカニズムは明らかにされていないと回答した。また、本研究結果から、がん細胞がシスプラチン耐性を獲得する過程で Claspin 発現が亢進し、これを標的とした免疫治療が有望となる可能性を説明した。WT と CR のゲノム配列の変異についての質問があり、本研究で変異の確認はしていないと回答した。さらに、テトラマーアッセイの手法および細胞傷害性分子の発現についての質問あり、本研究で誘導した Claspin ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞を精査した結果、PD1 の発現レベルは上昇していないため、少なくとも疲弊が生じる刺激は入っていないと考えていること、またグランザイム B は検討していないが、細胞傷害性に関連する報告のある CD107a の発現レベルは亢進していることを確認していると回答した。

この論文は、シスプラチン耐性膀胱がん細胞に発現増強する Claspin に対し、細胞傷害性 T 細胞が誘導されることから、がん免疫治療の標的分子となる可能性を示唆した点において高く評価され、今後、膀胱がん領域における新たな治療法の確立に寄与することが期待される。

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。