



Title	Studies on the differentiation of myeloid cells under the chemotherapy-treated human pancreatic cancer microenvironment [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	武内, 慎太郎
Description	配架番号 : 2186
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11956号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60030
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Shintaro_Takeuchi_review.pdf, 審査の要旨



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 武内 慎太郎

	主査	教 授	武富 紹信
審査担当者	副査	教 授	平野 聡
	副査	教 授	田中 伸哉
	副査	准教授	濱田 淳一

学 位 論 文 題 名

Studies on the differentiation of myeloid cells under
the chemotherapy-treated human pancreatic cancer microenvironment

（ヒト膵癌化学療法下の微小環境におけるミエロイド細胞の分化に関する研究）

近年、膵癌の治療において化学療法の位置づけは重要性を増してきているが、その一方で、いまだに多くの症例が化学療法抵抗性である。近年、化学療法の治療効果には、免疫細胞や血管内皮細胞、線維芽細胞といった、腫瘍微小環境が大きく関連していることが明らかとなっており、本研究ではこのうち、近年提唱されている細胞概念である

Myeloid-derived suppressor cells (MDSC) に注目している。MDSC は腫瘍由来の分泌因子により形成され、健常な状態ではほとんど生体内に存在しないが、担癌状態において抗腫瘍免疫を抑制し、化学療法抵抗性にも関連するといわれる。本研究では、ヒト膵癌微小環境、さらに抗癌剤投与という薬剤治療を行った条件におけるミエロイド細胞の形質を解析し、その生体機構について新たな考察を導いている。

まず、*in vitro* の実験結果により、ヒト膵癌細胞の培養上清により分化したヒト単球が、MDSC に特徴的な遺伝子・蛋白発現を有し、さらにそれらの形質は抗癌剤投与後に採取したヒト膵癌の培養上清により分化した単球では顕著となることを示した。これを説明づける機構として、ヒト膵癌細胞に抗癌剤を投与すると、複数の炎症性サイトカインやケモカインの発現上昇が起こることが確認され、このうち過去の報告でも膵癌と MDSC を関連付けるサイトカインとして重要な GM-CSF の発現上昇が顕著であることも示した。ヒト膵癌細胞の培養上清から特異的抗体を用いて GM-CSF を中和すると、培養上清により分化する単球の T 細胞の増殖抑制能が解除され、今回の実験で、抗癌剤投与により増強した MDSC の形質は、GM-CSF に強く依存することが明らかとなった。次に、ヒト膵癌の細胞材料や手術検体を用いて、GM-CSF の発現は多くの膵癌細胞株と組織にて共有される事象であり、さ

らに予後不良と関連していることが示された。さらに、化学療法投与後膀胱癌の組織においては、MDSC に関連する蛋白を発現する細胞が、化学療法未施行群と比べて有意に多いことを示した。これらの結果より、膀胱癌は GM-CSF を含めた炎症性サイトカインにより、その微小環境に MDSC を誘導すること、さらに化学療法により GM-CSF の発現がより高度となり、MDSC の形成やその免疫抑制能が促進される可能性が示された。

スライドを用いた口頭発表後、副査 平野教授より、*in vitro* の結果から GM-CSF に注目した理由について質問があった。また、組織検体を用いた実験において、化学療法群は治療が非常によく効いた限られた集団であることへの言及とその結果解釈について、さらに本研究から GM-CSF を治療標的とすることの臨床的な可能性について質問があった。次に、副査 田中教授より、このような GM-CSF と MDSC の関連は膀胱癌に限られた現象なのか、他癌種でも共有されたものなのかと質問があった。また、*in vitro* の実験の中で、ERK や NFkB などの細胞内シグナルの発現の上流経路について、GM-CSF そのものを投与すると単球は MDSC になるのか、また、T 細胞の数だけでなく、そのサイトカイン産生などの機能解析を行ったかどうか質問があった。また、化学療法施行膀胱癌において、MDSC 以外の免疫細胞の変化について質問があった。さらに、GM-CSF を阻害する治療の可能性と、一方で考えられる副作用等について質問があった。次に、副査 濱田准教授より、用いたヒト膀胱癌細胞株は RAS mutant かどうかと質問があった。また、抗癌剤を細胞に投与した際の、細胞の生存率について質問があった。また、臨床検体において GM-CSF 発現と MDSC の関連を解析したかどうか質問があった。また、GM-CSF の腫瘍マーカーとしての応用の可能性について質問があった。最後に、主査 武富教授より、臨床検体で用いた化学療法群は、比較的薬剤反応が良い症例である一方で、MDSC が多いというところの乖離について解釈が難しいこと、今回、解析していない化学療法の効果が乏しかった症例の解析が必要であること、また、MDSC と血管造生因子の相関など、追加で考えられる解析事項などの提案があった。さらに、リンパ球との関連も含め、化学療法により MDSC が増えていることが本当に免疫を抑制しているのか、むしろ良い作用をしているのかも含め、さらなる研究が必要であるとの提案があった。

いずれの質問や提案に対しても申請者はその主旨をよく理解し、自らの研究内容と文献的考察を混じえて適切に回答した。

本研究は、膀胱癌微小環境と化学療法に、MDSC という観点からアプローチし、新たな生体機構を提唱する内容であり、膀胱癌の病態解明や診断、治療の発展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）の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。