



Title	ゾレドロン酸により活性化させた $\gamma\delta$ T細胞の抗原提示能に関する検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	武藤, 真人
Description	配架番号 : 1689
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	乙第6980号
Issue Date	2016-03-24
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/61735
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Masato_Muto_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 藤 真 人

主査 准教授 北 村 秀 光
審査担当者 副査 教 授 篠 原 信 雄
副査 准教授 浜 田 淳 一
副査 教 授 清 野 研一郎

学 位 論 文 題 名

ゾレドロン酸により活性化させた $\gamma \delta$ T 細胞の抗原提示能に関する検討
(Studies on antigen-presenting capacity of human $\gamma \delta$ T cells activated by zoledronate)

近年, 活性化した $\gamma \delta$ T 細胞が抗原提示能を有することが報告されている。しかしながら, $\gamma \delta$ T 細胞が抗原提示能を獲得するための分子メカニズムは不明であった。本研究では, ゾレドロン酸により活性化させた $\gamma \delta$ T 細胞の抗原提示能とその分子メカニズムの解明を目的とした。本研究によって $\gamma \delta$ T 細胞では, 抗原提示細胞関連分子を発現し, 特に **MHC Class II**, **CD36** の発現が顕著であることを確認した。また, $\gamma \delta$ T 細胞では細胞内に抗原タンパクを貪食することを確認した。さらに, $\gamma \delta$ T 細胞はがん細胞を傷害するとともにがん抗原を提示する可能性が示唆された。分子メカニズムにおいては $\gamma \delta$ T 細胞がミエロイド系細胞の特徴である **C/EBP α** を発現し抗原提示能の獲得に重要であり, $\gamma \delta$ T 細胞が抗原提示能を獲得する際には **MAPK 経路**や **NF- κ B 経路**が重要であることが示唆された。

審査にあたり, まず副査の浜田淳一准教授からがん細胞に **p53** の変異によるイソペンテニルピロリン酸(**IPP**)の過剰な蓄積がないと $\gamma \delta$ T 細胞は認識できないのかとの質問があり, 申請者は, $\gamma \delta$ T 細胞には認識機構として, 細胞のがん化などのストレスにより誘導される **MICA/B** 分子を認識する **NKG2D** を発現しているため認識は可能である。また, 認識には接着分子による影響や **NK** と同様に活性化と抑制性レセプターも発現しているため, そのバランスも重要である。一方で, $\gamma \delta$ TCR による **IPP** の認識機構が最も重要であるとの経験があり, 対象としては **p53** の変異があるがん細胞が望ましいと回答した。また, $\gamma \delta$ T 細胞に関わる効果はビスフォスフォネート製剤の中でゾレドロン酸のみで確認される現象であるかという質問があり, 申請者は, ゾレドロン酸のみの効果ではなく窒素を含む, 例えばパミドロネートのようなビスフォスフォネート製剤であれば $\gamma \delta$ T 細胞が増殖できることを確認している。また, ゾレドロン酸を選択している理由としてメバロン酸代謝経路の **FPP** 合成酵素阻害効果が最も強いと回答した。次に副査の篠原信雄教授よりゾレドロン酸の投与によっても $\gamma \delta$ T 細胞が増殖するのかという質問に対しては, ゾレドロン酸の投与による末梢血中の $\gamma \delta$ T 細胞の増殖は $\gamma \delta$ T 細胞自体の投与による末梢血中の蓄積と比較すると軽度であることを, 参考スライドを使用して回答した。次に副査の清野研一郎教授より今後この $\gamma \delta$ T 細胞の抗原提示機能を利用した治療法としてどのようなことを想定されているのかとの質問があり, 申請者は, 二つの可能性を回答した。一つは樹状細胞のように体内での抗原提示能を期待した治療法, もう一つは体外での培養で $\gamma \delta$ T 細胞の抗原提示能を利用する培養法である。前者では, 樹状細胞のような数の限られた細胞を体外で大量に培養することにメリットがあるものの, 樹状細胞のように恒常的に **CCR7** の発現が確認されなかったことを挙げ, 抗原提示の場であるリンパ節への移行性に課題があることを回答した。後者では, $\gamma \delta$ T 細胞の培養法にペプチドや腫瘍ライセートを同時に添加することで $\gamma \delta$ T 細胞が抗原提示機能を発揮し, $\gamma \delta$ T 細胞と抗原特異的 **CD8T** 細胞を体外で培養することの可能性を回

答した。最後に主査の北村秀光准教授より抗原提示細胞として機能しているときのサイトカイン産生についての測定は行ったかとの質問があり、申請者は、 $\gamma\delta$ T細胞に何か特徴的なサイトカイン産生が認められれば興味深い、検討は行っておらず、今後の検討課題であると回答した。また、ペプチドやロングペプチド、がん細胞等は $\gamma\delta$ T細胞に取り込まれて処理された後に提示されていると考えているのかという質問に対しては、まずロングペプチドに関しては経験がないが、ペプチドに関しては、今回使用した系では細胞外で MHC Class I に直接結合している可能性が高いと回答した。がん細胞の取り込みに関しては、今回の系でがん細胞の取り込み画像を取得することは出来なかったが、他のグループにおいてがん細胞の断片を $\gamma\delta$ T細胞が取り込む画像の取得に成功しているため、今回の系においても抗原提示の際に実際に取り込んでいたのではないかと考察している。最後にどのようながんに対して $\gamma\delta$ T細胞療法が有効であるかと考えるのかとの質問があり、申請者は、 $\gamma\delta$ T細胞の認識機構の中で経験的に約7割は $\gamma\delta$ TCRを介したものであると想定しているため、p53の変異を有するがん種が有効であると考えていると回答した。

この論文は、これまで未知であった $\gamma\delta$ T細胞の抗原提示能の分子メカニズムにおいて検討を行い、 $\gamma\delta$ T細胞の抗原提示能の獲得にミエロイド系細胞の転写因子の発現とそれに関わるシグナル経路が重要であることを示した点で評価され、今後の新たな治療法の開発の可能性が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、これまでの研究活動における研鑽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。