



Title	免疫原性の高いマウス乳がん細胞株4T1-Sの同定 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	阿部, 紘丈
Description	配架番号 : 2261
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12387号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63284
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Hirotake_Abe_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 阿部 紘丈

	主査	教授	山下	啓子
審査担当者	副査	教授	西村	正治
	副査	教授	清野	研一郎
	副査	教授	大場	雄介

学 位 論 文 題 名

免疫原性の高いマウス乳がん細胞株 4T1-S の同定

(Identification of a Highly Immunogenic Mouse Breast Cancer Sub Cell Line, 4T1-S)

本研究は、免疫原性の乏しいとされているマウス乳がん細胞株 4T1 の中に、免疫原性の高い細胞集団が存在していることを明らかにし、その特性につき評価したものである。4T1 は免疫原性が低く、ワクチン効果も誘導されないものであるが、本研究ではその細胞株の中にも全細胞ワクチンとして効果を有する細胞集団（4T1-S）が存在していることを示し、そのワクチン効果が T 細胞依存性の反応であることを確認した。また、腫瘍増大、生存期間の評価においても 4T1-S が宿主免疫により制御されていることを示した。本研究では 4T1-S 株のワクチン接種により誘導された T 細胞の細胞障害性については確認されなかったが、脾臓において免疫記憶が誘導されていることを確認した。また、マイクロアレイを用いた網羅的解析により、接着因子や代謝に関わる遺伝子の発現レベルなどに違いがあることが確認されたが、免疫原性の調節因子の同定には至らなかった。しかし、今回同定された細胞株に対し今後さらなる解析を行うことにより、癌の免疫修飾機構の詳細が明らかとなれば、新規の免疫療法の開発や既存の免疫療法の効果改善に寄与することが期待される。

学位論文内容の口頭発表後、副査の大場雄介 教授よりマイクロアレイの発現解析においてその傾向について質問があり、申請者はパスイエイ解析などの結果を踏まえた上で、明らかに発現が上昇している経路などは認めなかったと回答した。また、遺伝子導入により作成した強制発現株に対し、蛋白レベルでの発現確認が行われているかとの質問がなされ、フローサイトメトリーにおいて評価、確認していると回答した。今回の実験手法について、単一の遺伝子を強制発現した結果が陰性であったが、複数の遺伝子を導入することについて質問があった。申請者は免疫原性に関与している遺伝子が単一とは限らない事を述べた上で、今後は今回候補として取り上げた遺伝子を複数導入した細胞株を作成して検討すべきであると回答した。次に、副査の西村正治 教授より、実験仮説において免疫抑制系の低下が生じている可能性について質問があった。申請者は、

4T1-A において機能している免疫抑制系の発現低下が起こった可能性も視野に入れ、4T1-A 株のノックアウト、ノックダウン株を作成し実験を行っていくべきであると回答した。次に、免疫原性以外の生物学的な差異について検討されているかとの質問があり、腫瘍生着、転移の度合いなどにつき実際の状況を説明し、明らかな差異がみられないと回答した。続いて、副査の清野研一郎 教授より腫瘍免疫における今後の展望について申請者の意見を求められた。申請者は、免疫治療が効きにくいとされている肺癌や膵臓癌といった癌種においても広く免疫療法の研究報告がなされていることを踏まえ、腫瘍免疫という観点から新規治療として期待されると回答した。最後に主査の山下啓子 教授より、本研究で使用していた 4T1-S 株について、その保管状況についての質問があり、申請者は研究室で通常に継代していたこと、液体窒素並びに凍結保存されていた検体であることを回答した。また、遺伝子変異の有無について、その見通しに関する質問があり、申請者は継代処置での遺伝子変異という可能性から、最も考えられるのは接着因子などに関わる膜蛋白の異常であると回答した。さらに、この細胞株で得られた知見の治療への応用についての質問があり、申請者は現在までに得られていられている事実のみでは困難であるが、今後、さらなる解明がなされれば治療への応用が期待される旨を回答した。最後に、4T1 細胞株のエストロゲンレセプター発現状況につき質問があり、申請者は同レセプターの発現について詳細なデータを提示し得なかったが、本細胞株がヒトのステージ IV 乳がんを模倣した細胞株として使用されている細胞株であることを回答した。

本論文は、同一の細胞株でありながら異なる免疫学的特性を有する細胞集団が存在することを示し、その特性を解析し得た点において高く評価されたが、初回審査時点においてほぼ基礎論文の内容と同一であり、申請者の研究における論理的思考過程の記載が不十分であったために、学位論文の修正を要した。再審査では修正された学位論文に十分な内容の追加記載があることを評価された。今後のさらなる研究により癌の免疫修飾機構の詳細を解明する一助とな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。