HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	TLR3アジュバントによるCTL依存性抗腫瘍免疫応答の解析［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	武田, 洋平
Description	配架番号：2301
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12560号
Issue Date	2017-03-23
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/65966
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Yohei_Takeda_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　田　洋　平

審査担当者
主査　准教授　北　村　秀　光
副査　教　授　有　川　二　郎
副査　教　授　清　野　研一郎
副査　教　授　田　中　伸　哉

学位論文題名

TLR3アジュバントによるCTL依存性抗腫瘍免疫応答の解析
(Analysis of CTL-dependent anti-tumor immune response induced by TLR3 adjuvant)

申請者はTLR3アジュバントの抗腫瘍効果について、特に樹状細胞を介した制御メカニズムの解明を目的とし研究を遂行した。また抗腫瘍免疫療法を行った際の治療奏功性の新規指標として$CD11c^+$ $CD8^+$ T細胞の増加現象に着目し、その有用性について解析を行った。

審査にあたり、まず副査の有川二郎教授から、腫瘍移植マウスモデルにTLR3アジュバントである Poly(I:C)を投与し腫瘍退縮を誘導させた実験に関して、Poly(I:C)治療の開始時期を変えることで腫瘍退縮効果は変化するかとの質問があった。それに対し申請者は、治療開始時期が遅くなると、腫瘍体積の増大や腫瘍内の免疫抑制環境の成立により治療効果が小さくなると回答した。またPoly(I:C)投与を行った際、マウスにおいてはヒトとは異なり顕著な副作用が認められない理由は何かとの質問があった。それに対し申請者は、ヒトの生体内では様々なメモリーT細胞が存在するのに対し、実験用マウスではメモリーT胞が殆ど存在していないという報告があることから、マウスではサイトカインストームが起こり難く、その差異が一要因になっているのではないかと回答した。

続いて副査の田中伸哉教授から、実験に使用した WT1-C1498 腫瘍株以外にも複数の WT1 抗原を発現している腫瘍に対し Poly(I:C)の抗腫瘍能を評価してはどうかとの提言があった。それに対し申請者は、OVA抗原陽性株であるEG7株移植モデルにおいてはTetramer assayをはじめとして細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導の程度や活性化状態を明確に評価する方法が確立されているのに対し、他の腫瘍株移植モデルでは効果的な評価法が確立されておらず、それゆえ様々な腫瘍モデルでの正確な解析が困難であったと述べた。それゆえ今研究で申請者が見出した、$CD11c^+$ $CD8^+$ T 細胞の増加現象が CTL の誘導程度や活性化状態を反映するという知見が、様々な腫瘍モデルを用いた解析の一助となると考え、今後は他の WT1 陽性腫瘍モデルや、ヒト由来の検体を用いて解析を進めたいと述べた。続いて、PD-L1・PD-1阻害療法をPoly(I:C)治療と併用した場合、抗腫瘍効果は増強するかという質問があった。これに対し申請者は、Poly(I:C)療法と PD-L1 阻害抗体を併用することで単独療法と比較し、より強力に腫瘍退縮が誘導されるという知見を得ていると回答した。

また副査の清野研一郎教授から、アジュバントのような外来刺激がない場合に抗腫瘍に貢献する自然免疫シグナルは何かとの質問があった。それに対し申請者は、腫瘍組織内には壊死した腫瘍細胞が含まれており、様々な DAMPs が放出され複数の自然免疫レセプターが活性化することを、またその一例として死細胞から漏出した DNA を認識する STING 等の

DNA センサーが近年注目されていると回答した。続いて CTL 上に発現誘導された CD11c 分子は細胞傷害において機能的役割があるかという質問があった。これに対し申請者は、CTL 上の CD11c 分子を阻害すると細胞傷害活性が低下するという報告に触れ、その機能として、インテグリン分子である CD11c がターゲット細胞との接着を担っている可能性を考察していると回答した。

主査の北村秀光准教授からは、Poly(I:C)治療を受けた野生型マウスの腫瘍内に $CD8^+$ DC や $CD8^+$ T 細胞が浸潤するメカニズムについて、その始まりとなっている免疫学的機序は何かとの質問があった。これに対し申請者は、リンパ組織におけるプライミングにより活性化した CTL が初めに腫瘍組織内へ浸潤し、その後腫瘍組織からケモカインや DAMPs が放出され、それにより $CD8^+$ DC や CTL の更なる浸潤が誘導された可能性、或いは $CD8^+$ DC が初めに腫瘍組織内へ浸潤することでケモカインを放出し、次いで CTL が誘引された可能性を考察していると回答した。そしてこの機序を解明するためには、Poly(I:C)治療開始後のリンパ組織や腫瘍内微小環境の変化を経時的に解析する必要があると回答した。次に、Poly(I:C)のマウスへの投与経路の違いで炎症性サイトカイン産生や抗腫瘍効果に差があるかとの質問があった。それに対し申請者は、静脈内投与や腹腔内投与に比較して皮下投与では炎症性サイトカイン産生量が少ないと回答した。また抗腫瘍効果については皮下投与、腹腔内投与ともにその効果が認められ、静脈内投与については未解析であると回答した。続いて、抗腫瘍免疫療法時の $CD11^+CD8^+$ T 細胞の増加現象について、樹状細胞などの他の細胞から $CD8^+$ T 細胞が CD11c 分子を奪っている可能性があるのではとの質問があった。これに対し申請者は、真偽は不明であるが、CTL における CD11c 分子の遺伝子発現レベルを解析することで転写前か転写後か、どちらに起因する応答であるか評価できると回答した。

この論文は TLR3 アジュバントの抗腫瘍効果について、樹状細胞を起点とした CTL 活性化メカニズムの一端を解明し、また治療奏功性評価の新規指標の有用性を示した点において高く評価され、今後の TLR3 アジュバントの実用化に向けた更なる研究への発展が期待される。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充分な資格を有するものと判断した。