HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	siRNA搭載脂質ナノ粒子による腫瘍微小環境のリプログラミングと新規がん治療法への展開［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	遠藤, 力斗
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(臨床薬学)
Dissertation Number	甲第14407号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81485
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Rikito_Endo_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（臨床薬学）氏　名　　遠藤　力斗

審査担当者	主　査	准教授	山　田　勇　磨
	副　査	教　授	小　川　美　香　子
	副　査	教　授	原　島　秀　吉
	副　査	講　師	高　倉　栄　男
	副　査	助　教	中　村　孝　司

学 位 論 文 題 名

siRNA 搭載脂質ナノ粒子による腫瘍微小環境のリプログラミングと新規がん治療法への展開

博士学位論文審査等の結果について（報告）

近年の抗 PD-1 抗体に代表される免疫チェックポイント阻害療法の成功により、がん治療における免疫療法の有用性が証明された。しかしながら、抗 PD-1 抗体が有効な患者は全体の 20-30%であり、残りの患者に対する有効性を向上させる戦略が求められている。この治療に対する抵抗性には、腫瘍微小環境（tumor microenvironment : TME）における非常に複雑かつ様々な免疫抑制機構の関与が報告されている。そのため、TME におけるがん免疫機構の正常状態へのリプログラミングは、これまで治療困難であったがん患者に対して利益をもたらす可能性を秘めている。

筆者は、この問題を克服するために２つの戦略を考案・実施しており、１つ目として siRNA を搭載した脂質ナノ粒子（lipid nanoparticle : LNP）により機能強化を施した樹状細胞（dendritic cell: DC）を用いて TME における免疫抑制機構の制御を試みている。がん免疫療法の一つに、体外で患者の細胞から誘導した DC を活性化し再び体内に戻す DC 療法がある。しかし、活性化された DC は免疫抑制性因子である indoleamine 2,3-dioxygenase 1（IDO1）を発現し、活性化 T 細胞の抑制やがん免疫抑制に関わる制御性 T 細胞（regulatory T cell: Treg 細胞）を TME 内に誘導し、DC 療法の効果を減弱させることが報告されている。従って、活性化した DC における IDO1 の抑制は有用な戦略になると考えられる。初めに、筆者は IDO1 に対する siRNA を搭載した LNP（siIDO1-LNP）を用いてマウス骨髄由来 DC（BMDC）における IDO1 遺伝子のノックダウン活性と細胞内取り込み効率を評価している。その結果、siIDO1-LNP は市販のトランスフェクション試薬と比較して、少量の siRNA で効率的にノックダウン活性を誘導できることを見出した。続いて、IDO1 を抑制した BMDC を用いてがんに対する治療効果を検討したところ、TME に存在する Treg 細胞を減少させ、DC 療法によ

るがん治療効果を増強させることに成功している。従って、筆者が構築した DC 療法は TME の免疫抑制性状態を改善することで、これまでに免疫チェックポイント阻害剤により効果が得られなかったがん患者に対して利益をもたらすことが期待される。加えて、これまでの siRNA 導入を利用した DC 療法の報告では、がんに対する有効性は示されたものの、特殊装置を必要とするエレクトロポレーション法や従来の siRNA 試薬を用いた場合では多量の siRNA を必要とするものであり、コストや簡便性などの面において多くの課題が残されていた。一方で、筆者が開発したシステムはこれらの問題を克服できることが予想され、近年問題となっている医療の高額化に対して有用なツールとなりうることが期待される。また本内容は、国際誌に掲載されたことからも評価の高い研究であると言えるだろう。

２つ目に、筆者は TME のがん免疫抑制の成立に関与する腫瘍血管内皮細胞（tumor endothelial cell: TEC）の機能制御に基づくがん治療法の構築を試みている。TEC の細胞表面に発現する Fas ligand（FasL）は、T 細胞を選択的にアポトーシスさせることで腫瘍内への浸潤を阻害し、がん免疫応答を抑制方向に傾けるため問題となっている。従って、TEC 上の FasL の阻害は、活性化 T 細胞の腫瘍内浸潤を促進させ、がん免疫療法の効果を増強させる有用な戦略であると考えられる。この考えに基づき、筆者は TEC に存在する FasL を制御可能な siRNA 搭載 LNP（siFasL-LNP）を構築し、TME おける免疫機構の正常状態へのリプログラミングを試みている。また、がん免疫応答を促進する Stimulator of interferon genes（STING）経路のアゴニストを搭載した LNP（STING-LNP）を併用することで複合がん免疫療法としての有用性も同時に評価している。初めに、筆者はがんに対する治療効果について検討しており、siFasL-LNP と STING-LNP の組み合わせることで従来のがん治療法にはない迅速かつ強力ながん治療効果をもたらすことに成功している。加えて、FasL 制御と STING アゴニストの組み合わせによる抗腫瘍活性の誘導には TEC の急速的な破壊が寄与している可能性が見出された。筆者が見つけたこの現象は、これまでに報告がない新しい知見であり非常に興味深い内容である。さらに特筆すべきは、本治療法が EPR 効果に基づくがん治療戦略からの脱却に成功したという結果である。現在、ヒトでの EPR 効果は疑問視されており、懐疑的な意見が世界中から寄せられている。そのような状況下において、今回得られた成果は本領域の学術分野において強力なインパクトを与えると思われる。

筆者は本論文において、TME における免疫機構のリプログラミングに基づくナノ DDS の開発に成功しており、従来のがん免疫療法では見られなかった画期的かつ強力ながん治療を実現している。そのため、本研究により得られた知見は、これまで治療が困難であったがん患者に対して多大な恩恵をもたらすことが期待される。以上のことから、筆者は北海道大学博士（臨床薬学）の学位を授与される資格あるものと認める。