HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	HLA リガンドーム解析を用いた膀胱癌cancer stem-like cells / cancer initiating cells (CSCs)に発現する癌抗原の研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	宮田, 遥
Description	配架番号：2640
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14618号
Issue Date	2021-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82966
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Haruka_Miyata_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　宮田　遥

主査　准教授　北村秀光
審査担当者　副査　教授　小林弘一
副査　准教授　山田雅文

学 位 論 文 題 名

HLA リガンドーム解析を用いた膀胱癌 cancer stem-like cells / cancer initiating cells (CSCs)に発現する癌抗原の研究

(Research of cancer antigens expressed in bladder cancer stem-like cells / cancer initiating cells (CSCs) using HLA ligandome analysis)

申請者は、膀胱がんにおけるがん幹細胞様細胞（cancer stem-like cells/ cancer initiating cells (CSCs)）に特異的に発現するがん抗原を探索、同定し、進行性膀胱がんに対する新規治療標的分子としての有用性を示した。本研究において、ヒト膀胱がん（UM-UC3）細胞株を使用し、aldehyde dehydrogenase （ALDH）活性の高い細胞株と低い細胞株を複数樹立し、sphere 形性能、造腫瘍形性能、抗がん剤耐性能および放射線耐性能を解析、評価することで、CSCs を高度に含む H-10 細胞株を選定した。また HLA リガンドーム解析により、H-10 細胞特異的に発現するペプチド群を探索した結果、glutamate ionotropic receptor kainite type subunit 2(GRIK2)が高発現していることを見出した。さらに、実際に GRIK2 ペプチドに対して特異的に反応する細胞傷害性 T 細胞（CTL）クローンがヒト末梢血リンパ球から誘導されることを確認した。

審査にあたり、まず副査の小林弘一教授より、本実験において UM-UC3 細胞株を使用した理由についての質問があり、所属研究室において UM-UC3 を使用した ALDEFLUOR assay が先行研究として実施されていたことから、本研究において、さらにその機能解析を遂行したと回答し、今後、臨床検体を使用した検討も必要であるとの認識を示した。また使用した細胞の全エクソームシークエンスの解析について質問があり、本研究においては実施して

はいないが、今後、ネオアンチゲンの検索という観点からも全エクソソームシークエンスの施行が望ましいと回答した。また、GRIK2 が ALDH1A1 の下流分子である可能性について質問があり、ALDH1A1 過剰発現株での GRIK2 遺伝子の発現を解析した結果、これまで ALDH1A1 の過剰発現と GRIK2 遺伝子の発現誘導は相関しない結果を得ていると回答した。

続いて副査の山田雅文准教授より、GRIK2 特異的 CTL を使用した ELISPOT assay において IFN-γを添加した意義についての質問があり、IFN-γを投与しない実験系において ELISPOT assay での反応性が低く、その原因として HLA class I 分子の発現が H-10 細胞で低下している可能性があると考えられたため、反応性を向上させる目的で IFN-γを添加したと回答した。また実際の腫瘍組織における GRIK2 の発現について質問があり、本研究では実施していないが、過去の報告において、膀胱がん患者検体の免疫染色において全体の 7 割程度が GRIK2 陽性であり、また予後との相関も報告されていると回答した。また HLA リガンドーム解析において HLA-A2 を対象とした理由について質問があり、UM-UC3 は HLA-A2 を発現している細胞株であり、また世界的にも HLA-A2 陽性のヒトが多いことであると回答した。

最後に主査の北村秀光准教授より、膀胱がんにおける GRIK2 の発現と機能についての質問があり、GRIK2 はがん幹細胞性との関連が報告されているが、がん幹細胞様細胞で高発現となる理由、およびその機能については報告がなく、今後の研究課題であると考えると回答した。また実臨床における膀胱がんに対する免疫治療の現状と、本研究結果の臨床応用について質問があった。現在、転移性膀胱がんの治療に免疫チェックポイント阻害薬は広く使用されているが、有効性は限定的であり、その理由として腫瘍量が膨大であり、免疫治療を施行しても限られた CTL の誘導では、がん細胞を全て駆逐できないことが一因と考えられていると回答した。また本研究結果から、今後、CSCs など標的となるがん細胞を絞り込み、GRIK2 を標的としたペプチドワクチンと免疫チェックポイント阻害剤と併用することで、より効率よく治療を行うことができる可能性を考えていると回答した。

この論文は、GRIK2 が膀胱がん、CSCs に高発現し、進行膀胱がんにおける治療標的分子として有用である可能性を示唆した点において高く評価され、今後、GRIK2 特異的免疫応答の賦活によるがん免疫治療や新規分子標的薬の開発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充分な資格を有すると判定した。