HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	CEAを標的抗原とするキメラ抗原受容体T細胞による膵臓癌への抗腫瘍効果の研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	佐藤, 理
Description	配架番号：2811
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15651号
Issue Date	2023-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90964
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SATO_Osamu_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　佐藤　理

主査　教授　　坂本　直哉
審査担当者　副査　教授　　清野　研一郎
副査　准教授　北條　慎太郎

学 位 論 文 題 名

CEA を標的抗原とするキメラ抗原受容体 T 細胞による膵臓癌への抗腫瘍効果の研究
(Studies on the therapeutic effect of CEA targeting chimeric antigen receptor engineered T cells for pancreatic adenocarcinoma)

本研究では、難治性癌である膵癌に対する CEA 標的キメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T)療法の応用を目的として、様々な CEA 発現量のヒト膵癌細胞株を用いて抗 CEA-CAR-T による抗腫瘍効果の検証を行い、さらに将来的な臨床応用へ向けた治療予測因子の探索を行った。その結果、標的 CEA 発現量が多い細胞株において抗 CEA-CAR-T は有意な抗腫瘍効果を認め、また、検体の病理組織学的 CEA 染色の強度が抗 CEA-CAR-T 療法の患者選択の指標となり得る事が示された。

審査にあたり、まず副査の北條准教授より、有意な抗腫瘍効果を認めたのは高発現群の細胞株のみであったため、"抗原量依存性に抗腫瘍効果がある"という表現は強調しすぎではないかとの指摘があった。主査の坂本教授からも"抗原量依存性"と言える根拠が乏しいため修正が必要と指摘があった。申請者は、最も高発現の MKN45 では特に強い有意差を認めた事から"抗原量依存性"という表現を用いたものの、完全に抗原量依存性を裏付けているデータは無いため、学位論文の表現を修正すると回答した。続けて北條准教授より、CTL アッセイで CAPAN-1 が可溶性 CEA (sCEA)1000ng/ml 下で細胞障害活性の低下に有意差を認めなかったのは、既に CAPAN-1 から分泌された sCEA による CAR-T 阻害がプラトーに達していたからではないかとの質問があった。また続けて、癌微小環境部分の CEA 分泌の存在について検証はされているのか、競合アッセイの sCEA 濃度の設定はどのように決めたのかと質問があった。申請者は、sCEA の ELISA において CAPAN-1 からの CEA 分泌は少なかった事から、CTL アッセイでは sCEA による競合は来さなかったと考えた事、確かに sCEA 高濃度下では CAR の阻害の可能性を認めたが、臨床的に患者の血清 CEA が抗 CEA-CAR-T と競合する可能性は低い程度だと結論づけたと回答した。また、微小環境下での CEA 分泌について既報はなく、局所的に sCEA が高濃度となり CAR-T を阻害する可能性については今後の課題であると回答した。sCEA 濃度については、あくまで臨床における血清 CEA 値との比較が目的であったため、実臨床で起こり得るよりもかなりの高濃度を見積もって 1000 ng/ml までを設定したと回答した。次いで副査の清野教授より、sCEA 競合アッセイの目的としては、高濃度で抑制される事を期待して行ったものであったのか、結論は何だったのかとの質問があった。申請者は、今回の CAR-T が認識する CEA のエピトープが F11-39 という膜結合アンカー部分であるため、sCEA と CAR-T の競合はあまり起こらない

予測の元で行ったと回答した。結論としては、かなりの高濃度であれば CAR-T と競合するが、実臨床では血清 CEA が CAR-T と競合する可能性は低いという事だと説明した。続けて、CAR-T 作製のドナーは何人かと質問があった。申請者は、CAR-T 作製は数人のドナーで試したが、最終的には毎回同一人物からであると回答した。続けて、ドナーの一人はどういう理由で選んだのかとの質問があった。また主査の坂本教授からも、今回選んだクローンはどういう CAR-T だったのかと質問があった。申請者は、ドナー毎の CAR-T 機能の評価は行っておらず、導入率が良好であったものを選びはしたが、あくまで実験毎のドナー差を無くす事を目的に一人に絞ったと回答した。さらに、血清 CEA と病理 CEA 染色に相関無しいう結果は CAR-T 療法においてどういう結論になるのかと質問があった。申請者は、今後患者選択をする際に血清 CEA はバイオマーカーとして利用できないと結論づけたと回答した。次いで、主査の坂本教授より CAR の導入率とはどういう事なのかの確認があった。申請者は、全 T 細胞中に CAR が導入された割合であると説明した。また、今回の CAR-T が CEA に対し活性を示す事の確認は行われているのかについて質問があった。申請者は、本 CAR-T の活性確認は三重大学での先行研究で行われており、また抗 CD3 と IL2 による刺激培養で本 CAR-T はαβT 細胞を使用しているため、より活性化を得ていると回答した。続いて、今回の結果を踏まえると CAR-T の対象となる可能性のある患者は何人だったのか質問があった。申請者は、病理染色 CEA++を対象とすると 21 人中 13 人だと回答した。次いで、腫瘍のサイズやステージと CEA 染色強度に相関はあったのか質問があった。申請者は、サイズでは検証していないがステージに関わる部分（T 分類）であり、ステージと染色強度については有意な相関は認めなかったと回答した。また、学位論文中でいくつか記載のある″ CAR-T による有意な副作用は認めなかった″という表現は根拠不十分のため修正が必要と指摘があった。申請者は、本研究では有意な体重減少と血中サイトカイン増加が無かった事を示したのみのため、表現を修正すると回答した。改めて最後に、副査の北條准教授より学位論文図 6 の T0 と ET の記載と、図 16 の CEA 単位に記載にミスがあると指摘があった。申請者は、修正すると回答した。

上記のごとく、申請者は質問事項に対して適切に回答、対応し、本研究で得られた研究成果の解釈、意義、限界、今後の方向性についても明確に理解していた。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定した。