



|                     |                                                                                                         |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | CEA特異的キメラ抗原受容体発現T細胞を用いた膵臓癌に対する免疫細胞療法に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]                                                |
| Author(s)           | 武内, 優太                                                                                                  |
| Description         | 配架番号 : 2882                                                                                             |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                   |
| Degree Name         | 博士(医学)                                                                                                  |
| Dissertation Number | 甲第16201号                                                                                                |
| Issue Date          | 2024-12-25                                                                                              |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/94080">https://hdl.handle.net/2115/94080</a>                       |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a> |
| Type                | doctoral thesis                                                                                         |
| File Information    | TAKEUCHI_Yuta_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 武内 優太

|       |    |     |        |
|-------|----|-----|--------|
|       | 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 特異的キメラ抗原受容体発現 T 細胞を用いた膵臓癌に対する免疫細胞療法に関する研究

(Studies on the CEA specific chimeric antigen receptor T cell therapy for pancreatic ductal adenocarcinoma)

本研究では、膵癌に対する CEA 特異的キメラ抗原受容体発現 T 細胞 (CAR-T) 療法の治療抵抗性の機序を検討することを目的として、ヒト膵癌細胞株ならびに膵癌オルソトピック異種移植マウスモデルを用いて検討を行った。加えて、膵癌患者由来の CAR-T 細胞を作製し、健常者由来の CAR-T 細胞との抗腫瘍効果・疲弊化の程度の差異を比較検討した。その結果、CEA-CAR-T 細胞の治療抵抗性の原因として、CAR-T 細胞の抗腫瘍効果減弱が原因であることが示唆された。また、患者由来の CAR-T 細胞は健常者群と比較して、抗腫瘍効果は同程度であったが、増殖率が有意に低値であることが示された。

審査にあたり、まず副査の北條准教授より、結語として CAR-T 細胞の機能不全が原因と記載しているが、腫瘍への浸潤能などは保たれているため“機能不全”という表現は漠然としているとの指摘があった。申請者は CAR-T 細胞の抗腫瘍効果の減退が治療抵抗性の主な原因であると考え、学位論文の表現を修正すると回答した。続けて、本研究の新規性を具体的に提示してほしいとの質問があり、副査の清野教授からも先行研究である佐藤らの報告との違いを示すように質問があった。申請者は臨床試験で用いられている CAR-T 細胞の副刺激分子は CD28 や 4-1BB が主に用いられているが、本研究で用いた CAR のコンストラクトは T 細胞の刺激・活性化に加え、制御性 T 細胞からの刺激を抑制する GITR 分子を組み込んだ CAR-T 細胞を使用している点、治療抵抗性の課題として CAR-T 細胞の持続性、腫瘍への浸潤、腫瘍微小環境、疲弊化などが報告されているが、各課題の中でも CAR-T 細胞の細胞障害活性低下が治療抵抗性の主たる原因として究明できた点で新規性があると回答した。すなわち、先行研究は CAR-T 細胞の抗腫瘍効果を確認したものであり、その先の課題である抗腫瘍効果の喪失機序を検討したのは本研究が初めてであると回答した。続いて北條准教授より、CAR-T 細胞の持続性の喪失は腫瘍細胞の CEA 発現の低下が原因なのか、それとも CAR-T 細胞の細胞障害により腫瘍が消失し、それにより抗原提示の機会を失うことで持続性喪失が起こるのかとの質問があった。申請者は CEA の発現が低下し CAR-T 細胞への抗原提示が失われることにより持続性が喪失すると考える と回答した。次いで、副査の清野教授より、この研究と外科学との関連性や申請者が外科医である優位性はあるのかという質問があった。申請者は、実臨床で多くの膵癌術後再発例や切除不能例を経験する中で CEA-CAR-T 療法の臨床応用を見据え、問題となっている CAR-T 細胞の治療抵

抗性について精力的に取り組むことができた。また、パイロット研究ではあるが、外科医として実際に手術材料が容易に入手でき、切除検体から膵癌初代培養細胞の樹立・CAR-T細胞との治療効果の検討を試みることができたことなど、申請者が外科医であることの優位性はあると回答した。続いて、清野教授より本研究における Re-challenge テストの目的は何かとの質問があった。申請者は本研究における Re-challenge テストは膵腫瘍への抗腫瘍効果減退は腫瘍成育に伴い形成される腫瘍微小環境によるものの可能性があるため、新規の皮下腫瘍を作製することで腫瘍微小環境による影響を排除した環境での CAR-T 細胞の抗腫瘍効果を検討するために行ったと回答した。最後に主査の坂本教授から、Exhaustion とあるが PD-1 以外の疲弊化マーカーは検討したのかとの質問があった。申請者は PD-1 以外にも Tim3 や LAG3 も検討したが再現性のあるデータを得られなかったと回答した。次いで、IHC において腫瘍内の CD8 陽性 T 細胞を CAR-T 細胞としているが、それら細胞の CAR の発現に関して質問があった。申請者は CAR-T 細胞が標的抗原を認識すると、CAR の発現が低下することが報告されており、CAR-T 細胞を検出することが困難であったため CD8 陽性 T 細胞をサロゲートマーカーとして用いたと回答した。また、患者由来 CAR-T 細胞に関し、採取した患者の病期がどの程度であったかとの質問があった。申請者は cStage I-II の患者からの採取であったと回答した。改めて最後に、副査の北條准教授より *Ex vivo* の検討はサンプル数が少ないため有意差検定は不適切であるとの指摘があった。

この論文は、膵癌に対する CEA-CAR-T 療法の治療抵抗性の機序を検討したものである点で高く評価され、今後の膵癌に対する CEA-CAR-T 療法の研究の発展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）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。