



Title	肝がんにおけるNK細胞の抗腫瘍免疫を負に制御する因子の同定と新規治療標的の探索 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	阪田, 敏聖
Description	配架番号 : 2898
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16406号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95398
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	SAKATA_Toshihiro_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 阪田 敏聖

主査 教授 清野 研一郎
審査担当者 副査 准教授 北條 慎太郎
副査 准教授 橋本 大吾

学 位 論 文 題 名

肝がんにおける NK 細胞の抗腫瘍免疫を負に制御する因子の同定と新規治療標的の探索
(Study on potential targets for immune intervention by revealing NK cell
function-related phenotypes in HCC patients)

申請者は健康成人(HV)と肝細胞癌(HCC)患者より採取した末梢血から抽出した末梢血単核細胞、肝切除検体から抽出した肝浸潤リンパ球を用いて、ナチュラルキラー(NK)細胞の細胞頻度や細胞表面受容体についてマスサイトメトリーを用いて網羅的解析を行った。年齢をマッチさせた比較において、NK^{dim}細胞上の抑制型受容体 ILT2、NKG2A、CD47 の発現レベルは HCC 患者で有意に高く、活性型受容体 Siglec-7、DNAM-1、2B4 の発現レベルは有意に低い事を示した。癌部では NK^{dim}細胞の頻度が低下しており、NK^{dim}細胞上の ILT2 の発現が末梢血 NK 細胞よりも肝内で高発現していることを示した。NK^{dim}細胞上の ILT2 の発現は、肝細胞癌株と非接触型共培養で発現上昇することを見出し、肝細胞癌株の培養上清にマクロファージ遊走阻止因子(MIF)の濃度が高いことを明らかにした。リコンビナント MIF は用量依存的に NK^{dim}細胞に ILT2 の発現を誘導し、その誘導経路には NK^{dim}細胞上の MIF の受容体である CXCR4 が関与していることを示した。ILT2+NK^{dim}細胞は、ILT2 陰性細胞よりも低い細胞傷害活性と ADCC 活性を示したが、抗 ILT2 抗体によって機能回復することを示した。これらの発見は、ILT2 およびその誘導経路が HCC の新規治療標的である可能性を示唆していると報告した。

審査にあたり、副査の北條准教授より本研究の新規性について質問があり、申請者は HCC において ILT2 が NK 細胞に誘導され、その誘導には HCC が産生する MIF と NK 細胞上の CXCR4 が関与することはこれまで報告がなく新規性が高いと回答した。また、HCC の背景疾患によって ILT2 発現に違いはあるのかという質問に対して、別の実験系である慢性肝障害においても NK 細胞上に ILT2 が誘導されているが背景疾患による違いは認めなかったと回答した。研究背景で示した T 細胞をターゲットとした抗 PD-L1 抗体と抗 VEGF 抗体併用療法で 20%しか奏効しない理由について質問があり、HCC の免疫療法には不明な部分が多く、今後本研究で明らかにした NK 細胞の ILT2 が治療成績に関わっているかを明らかにしていきたいと回答した。ILT2 陽性の NK 細胞は活性型受容体の発現低下や別の抑制型受容体の発現が亢進していたが、それらの表面受容体は NK 細胞の機能や ILT2 発現にど

のように関わっているのかという質問に対して、共発現していた抑制型受容体についてはその誘導経路は検討したものの本研究では明らかにできなかった、ILT2 との関係については別経路での誘導なのか相互に関与しているかは細胞内経路などの検討を行っていないため不明な部分が多いが、相互に関与している可能性はあり今後の研究課題であると回答した。NK 細胞が HCC 患者の末梢血や癌組織において少ないこと自体も抗腫瘍免疫が低下していることの原因なのかという質問に対して、NK 細胞の頻度低下自体も免疫機能低下に関わっているが、NK 細胞の癌部への誘導低下の原因は不明な部分が多く、本研究では細胞障害活性を特徴とする NK 細胞の大多数を占める NK^{dim} について検討を行ったが、サイトカイン産生を特徴とする免疫調整機能がある NK^{bright} が NK 細胞の癌部への誘導抑制に関わっている可能性はあると回答した。

次に副査の橋本准教授より、本研究では臨床検体を使用しているが ILT2 の発現や MIF の発現と予後との関連は検討したかという質問に対して、本研究では症例数が少なく術後の観察期間も短く予後との関連については検討できていないと回答した。また、病理スライでの免疫染色では MIF の発現を確認できなかったため、今後は肝切除検体より肝組織を抽出して検討したいと回答した。免疫療法の中心的な細胞は T 細胞であるが、ILT2 は T 細胞に影響を及ぼすことがあるのかという質問に対して、NK 細胞の ILT2 が T 細胞の機能へ影響を及ぼすという既報は存在せず、本研究でも検討していないと回答した。別の実験系において免疫チェックポイント阻害剤の治療効果と NK 細胞の ILT2 発現との関係について検討中であり、今後報告したいと回答した。CXCR4 阻害剤はすでに臨床応用されているが、HCC においても治療薬としての可能性はあるかという質問に対して、マウス実験など *in vivo* 実験はできていないが、*in vitro* にて CXCR4 と HCC 由来の MIF により NK 細胞に ILT2 を誘導し機能低下を起こしているため、CXCR4 も治療薬として可能性があるかと回答した。本研究の背景疾患である HCV は SVR 後であるか、また HCV 感染状態と SVR 後では NK 細胞の ILT2 の発現などに違いはあるのかという質問に対して、本研究の HCV は全例で SVR 後であったと回答した。別の実験系では HCV 慢性肝障害の SVR 前後では ILT2 の発現に優位差を認めなかったと回答した。ILT2 の誘導に MIF が関与していることから慢性肝障害や HCC など慢性炎症状態が ILT2 誘導に関与していると思われるかと回答した。

最後に主査の清野教授より、B 細胞や T 細胞などの他の免疫細胞では ILT2 に変化を認めたかという質問に対して、網羅的解析による検討では他の免疫細胞での ILT2 発現に差を認めなかった。MIF は NK 細胞のみで検討したため、他の免疫細胞への影響は検討していないと回答した。ILT2 が NK 細胞に発現することでどのように機能抑制するのかという質問に対して、NK 細胞の ILT2 と HLA-G は胎児と母体間での免疫寛容に関与しており、HCC では免疫抑制に働いている、また本研究では細胞内経路については検討できていないと回答した。これまで抗 ILT2 抗体の治験や動物実験での報告はあるのかという質問に対して、臨床応用されるような臨床レベルでの報告はなく、乳がん領域において *in vitro* や *in vivo* 実験において本研究のように抗 ILT2 抗体で NK 細胞機能が回復するという報告があると回答した。

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十分な資格を有するものと判定した。