

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	真島 宏聡
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項 2 項該当		
論文題目 Generation of GM-CSF-producing antigen-presenting cells that induce a cytotoxic T cell-mediated antitumor response (細胞傷害性 T 細胞による抗腫瘍免疫応答を誘導する iPS 細胞由来 GM-CSF 産生抗原提示細胞の開発)			
論文審査担当者			
主 査	教授	一戸 辰夫	印
審査委員	教授	保田 朋波流	
審査委員	講師	望月 慎史	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>樹状細胞（dendritic cell : DC）は生体内で最も強力な T 細胞刺激活性を有した抗原提示細胞であり，がん免疫においてはがんを排除する T 細胞応答の誘導に中心的な役割を担っている。この DC に「がん抗原」を負荷して生体に投与することで体内のがん反応性 T 細胞を活性化する「DC ワクチン」は，有力ながん免疫療法の 1 つとしてその効果が期待されている。しかし，現在実施されている DC ワクチンにはがん患者の末梢血中の前駆細胞から誘導した DC が用いられているが，この方法は誘導効率が悪く，誘導した DC の機能が不安定であり，期待された臨床効果を安定して得ることが難しい。また，治療に十分な量の DC を調達するためには大量・頻回の採血やアフエレーシスが必要であることや，個別化医療の高額な費用が治療普及の妨げとなっている。</p> <p>以前，本研究者のグループはマウス iPS 細胞から誘導したミエロイド細胞に増殖因子 c-Myc を遺伝子導入することで，GM-CSF 依存性に増殖するミエロイド細胞（iPS cell-derived proliferating myeloid cell : iPSC-pMC）を構築し，がんワクチン治療に応用可能なミエロイド細胞の安定・大量供給を可能にする技術を開発した（Zhang R, et al. Cancer Immunol. Res. 2015）。本研究では，iPSC-pMC をさらに遺伝子改変することで機能修飾を行った抗原提示細胞を作成し，その細胞を用いたがんワクチン治療法の効果について報告している。</p> <p>抗腫瘍効果の増強ならびに操作性の向上を期待し，レンチウイルスベクターを用いて GM-CSF 遺伝子を導入した iPSC-pMC を作製した（GM-CSF producing iPSC-pMC : GM-pMC）。遺伝子導入前後で表面形質や形態に変化はなく，T 細胞刺激に重要な役割を担う抗原提示分子（MHC class I/II），および共刺激分子（CD40, CD80, CD86）の発現を認めた。GM-pMC は自身が産生する GM-CSF により，培地に GM-CSF などのサイトカインを添加せずとも安定して増殖するため，より簡便に培養可能となり操作性が向上した。遺伝子導入前の iPSC-pMC に比べ生体内投与後の生存能に優れており，さらに GM-pMC が産生する GM-CSF が T 細胞の増殖を誘導することが明らかになった。その結果，H-2K^b 拘束性オボアルブミン（OVA）ペプチドを負荷した GM-pMC を同系マウスに腹腔内投与すると生体内で効率よく OVA 特異的 CD8⁺ T 細胞応答を誘導し，皮下移植した OVA 発現マウスメラノーマ細胞株（MO4）の生着を抑制することで生存期間を延長した。この効果は骨髓由来 DC（BM-DC）を用いた場合と同等であった。</p> <p>GM-pMC は iPS 細胞由来であるため，投与後に奇形腫などの造腫瘍性のリスクが懸念される。そこで，GM-pMC の生体内増殖を抑制することを目的に，放射線照射（85Gy）した OVA 負荷 GM-pMC を投与して MO4 腫瘍細胞株に対する生着抑制効果を評価したところ，未照射の GM-pMC と遜色ない OVA 特異的 CD8⁺ T 細胞応答を惹起して，BM-DC を用いた場合と同等の抗腫瘍効果が認められた。したがって，投与前放射線照射による GM-pMC の安全性の向上が可能と考えられた。</p> <p>次に，MO4 担癌マウスに対して，OVA 負荷 GM-pMC を投与する治療の効果を検証した。GM-pMC ワクチンは，免疫チェックポイント阻害剤（抗 CTLA-4 抗体＋抗 PD-L1 抗</p>			

体，以下 ICIs) より抗腫瘍効果に優れており，両者を併用することで最も強い効果を発揮した。治療後のがん組織内の免疫細胞をフローサイトメトリーで解析したところ，GM-pMC ワクチンにより細胞傷害分子（パーフォリンまたはグランザイム B）を発現する CD8⁺ T 細胞と NK 細胞が著明に増加しており，ICI を併用すると CD8⁺ T 細胞や NK 細胞をさらに増加させるだけでなく，骨髓由来免疫抑制細胞（MDSC）を減少させることも観察され，これらが抗腫瘍効果に寄与していると考えられた。GM-pMC ワクチン投与による末梢血中の炎症性サイトカインの上昇や，全身の各臓器への炎症細胞の浸潤などを認めず，明らかな有害事象は観察されなかった。

以上の結果から，本論文において，マウス iPS 細胞由来のミエロイド細胞に GM-CSF 産生能を賦与することで優れたがんワクチン効果を発揮する抗原提示細胞を作製したことを報告した。この細胞を HLA ホモ iPS 細胞ストックから作製してバンク化することで，細胞調達のための頻回の採血や煩雑な誘導作業を必要とせず，安定した抗腫瘍効果を発揮するがん治療用抗原提示細胞を簡便に提供することが可能になると期待される。

よって審査委員会委員全員は，本論文が真島宏聡に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。