

## 論文内容の要旨

申請者氏名 小屋 照継

樹状細胞(Dendritic Cells, DC)は、外来の病原体やがん細胞の情報(抗原)を取り込み、T細胞に提示することで(抗原提示)、特異的抗体の産生や細胞傷害性T細胞(Cytotoxic T Lymphocyte, CTL)の誘導などを担い、獲得免疫で中心的な役割を担うことから、その特性を活用したがん治療法として、樹状細胞ワクチン療法の研究開発が進められている。樹状細胞ワクチンとは、ヒトの単球より樹状細胞を誘導し、がん細胞に特異的な抗原(がん抗原)を取り込ませた免疫細胞製剤のことを言う。ヒトの単球から未成熟な樹状細胞への分化誘導には、Granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)と Interleukin-4 (IL-4)の組み合わせ(未成熟 IL-4-樹状細胞)か、IL-4の代わりに Interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ )を用いた組み合わせ(未成熟 IFN-樹状細胞)により行うことができ、その後、Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、Lipopolysaccharide (LPS)、CD40 リガンド、ピシバニールピシバニール(溶連菌の乾燥菌体制剤、別称: OK-432)等の免疫賦活剤を投与することで、抗原提示能を示す成熟型の樹状細胞(それぞれ、mIL-4-樹状細胞、mIFN-樹状細胞)を作製することができる。さらに、ピシバニール等で成熟させた樹状細胞(mIL-4-樹状細胞、mIFN-樹状細胞)では、がん細胞を直接攻撃する細胞傷害性も保持するようになるとの報告例もある。よって、IFN-樹状細胞とピシバニールを用いた樹状細胞ワクチンは、抗原提示能を介した細胞傷害性T細胞の誘導と、がん細胞を直接的に攻撃する細胞傷害性から、優れた抗腫瘍効果を発揮することが期待されるが、IFN-樹状細胞に与えるピシバニールの働きは必ずしも明らかにはされていない。そこで申請者はIFN-樹状細胞の成熟と細胞傷害性に与えるピシバニールの役割を検討し、樹状細胞ががん細胞を攻撃する作用機序の解明を目的とした。

ピシバニールにて誘導したIFN-樹状細胞は、(1)成熟樹状細胞の指標(CD86とHLA-DR)を高く発現し、(2)凝集形態(クラスター)を示し、(3)がん抗原(MART-1)を用いた混合培養試験で高い抗原提示能を示し、(4)細胞傷害性T細胞の誘導に適したサイトカイン遺伝子を発現したことから、成熟型の樹状細胞であることを明らかにした。さらに、ピシバニールは、IFN-樹状細胞の細胞傷害性を亢進させ、この細胞傷害の機構には、TRAILとFasリガンド経路を介した細胞死が関与することを見出した。したがって、ヒトの単球からGM-CSFとIFN- $\alpha$ により分化誘導し、ピシバニールで成熟させた樹状細胞は、抗腫瘍効果の優れた樹状細胞ワクチンとして臨床への応用が期待されることを提唱した。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 小屋 照継

近年、新たながん治療戦略の一つとしてがん免疫が注目されている。がん免疫ではT細胞に焦点を当てることが多く、人為的キメラ遺伝子をT細胞に導入して治療に用いる方法や、免疫チェックポイントを操作することでT細胞の機能を向上させる方法などが考案されている。しかし、これらの方法にも限界は存在し、さらに新規の免疫療法が模索されている。本論文で焦点を当てている樹状細胞は、免疫の獲得で中心的な役割を担う抗原提示細胞で、病原体やウイルスへの免疫の獲得に寄与する一方で、体内で生じたがん細胞を排除するがん免疫の誘導にも関与する。体内で日常的に発生するがん細胞は、第一にNK細胞などに発見されて攻撃を受ける。攻撃により暴露されたがん細胞に特異的な抗原(がん抗原)は樹状細胞に取り込まれ、樹状細胞はがん抗原をT細胞に提示することで、がん細胞を特異的に攻撃する細胞傷害性T細胞を誘導する。がん細胞を特異的に認識し、傷害する作用機序から、副作用が少ないと考えられており、樹状細胞によるがん免疫の獲得を活用したがん治療法として、樹状細胞ワクチン療法の開発研究が進められている

樹状細胞ワクチンには大量の樹状細胞が必要であり、通常、ヒト単球より GM-CSF と IL-4 の存在下で未成熟な IL-4 樹状細胞へ分化誘導した後、ピシバニールと炎症性サイトカイン Prostaglandin E2 (PGE2) を用いて、成熟型の樹状細胞に改変して用いる。これに HLA-Class I に結合する人工的に合成したがん抗原を取り込ませて、樹状細胞ワクチンとして出荷される。近年、末梢血中の骨髓系樹状細胞が、IFN- $\alpha$  または IFN- $\gamma$  に応答し、TRAIL 依存的にヒトがん細胞に細胞傷害性を示すことが示されて以来、GM-CSF と IL-4 を用いた古典的な樹状細胞の作製方法ではなく、GM-CSF と IFN- $\alpha$  の存在下で、ヒトの単球より分化誘導される IFN-樹状細胞が臨床で使用され、期待されている。

本論文で、申請者は、ヒトの単球から GM-CSF と IFN- $\alpha$  により分化誘導し、ピシバニールで成熟させた樹状細胞が、mIL-4-樹状細胞と同等の細胞傷害性 T 細胞の誘導能を示し、さらに、がん細胞を直接的に攻撃する細胞傷害性を有することから、抗腫瘍効果の優れた樹状細胞ワクチンとして臨床への応用が期待されること、この細胞傷害の機構には、TRAIL と Fas リガンド経路を介した細胞死が関与することを見出した。

以上のように、本論文はピシバニールが IFN-樹状細胞の成熟と細胞傷害性を促進させることを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。