

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	三隅 俊博
学位授与の条件	学位規則第4条第①、2項該当		
論文題目 Stimulation of natural killer cells with rhCD137 ligand enhances tumor-targeting antibody efficacy in gastric cancer (rhCD137 リガンドによる NK 細胞刺激により胃癌に対する分子標的薬の効果は増強する)			
論文審査担当者			
主査	教授 大毛 宏喜	印	
審査委員	教授 松浦 伸也		
審査委員	准教授 大上 直秀		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>CD137 は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーに属する膜貫通型糖蛋白質で、活性化した免疫細胞に表出し、増殖や生存、サイトカインの産生を増加させる共刺激分子として知られている。悪性新生物においては、B 細胞リンパ腫、乳癌、頭頸部癌、大腸癌などで、分子標的薬の投与により NK 細胞に CD137 を発現誘導し、Agonist CD137 抗体を投与することによって抗体依存性細胞障害性 (ADCC) を増強することが報告された。しかし、胃癌における CD137 の発現の有無や発現誘導機序について検討した報告はない。そこで、胃癌制癌治療における CD137 の意義について検討するとともに、発現誘導機序について解析を行った。</p> <p>胃癌に対し ADCC 活性を生じた NK 細胞に CD137 が発現するかを解析するため、健常人より抽出した NK 細胞と各胃癌細胞株を Trastuzumab, Cetuximab, Pertuzumab 投与下に培養し、CD137 の発現をフローサイトメトリーで測定した。さらに recombinant human CD137 ligand (rhCD137L) による抗腫瘍効果の増強の有無について検討するため、⁵¹Cr 遊離試験や Cytometric Bead Array を用いたサイトカイン (IFNγ, TNF, Granzyme A, Granzyme B) の測定、CD56/CD107a 二重染色を行った。次に NK 細胞の CD137 発現誘導については、IgG 抗体サブクラスや NK 細胞の一塩基多型との親和性に着目してフローサイトメトリーで解析した。</p> <p>各種胃癌細胞株に Trastuzumab を投与し NK 細胞と培養したところ、HER2 陽性率に相関して NK 細胞の CD137 の発現が著明に増加した ($p < 0.001$)。また抗腫瘍効果について検討したところ、Trastuzumab に加え rhCD137L を投与することにより、10-15%の抗腫瘍効果の増強を認めた。rhCD137L の投与により、NK 細胞の phenotype に変化は認められなかったが、IFNγ, TNF などのサイトカイン分泌は有意に増加した ($p < 0.05$)。Cetuximab においても、NK 細胞の CD137 発現が増加し、rhCD137L の投与による抗腫瘍効果の増強を認め ($p < 0.01$)、Trastuzumab と同様の結果が得られた。さらに異なる HER2 ドメインに結合する Trastuzumab と Pertuzumab の併用投与が、CD137 の発現や rhCD137L による抗腫瘍効果におよぼす影響について検討したところ、NK 細胞の CD137 の発現は単独投与と比べ、相加的に増加し、rhCD137L の投与による抗腫瘍効果も増強することを見出した ($p < 0.05$)。</p> <p>次に NK 細胞の CD137 発現誘導機序について検討した。ADCC は NK 細胞の FcγR と抗体の Fc 構造との結合が重要であることより、IgG サブクラスの違いによる CD137 の発現変化について検討した。IgG1-4 サブクラスを各々固相化し、NK 細胞を共培養したところ、FcγR と親和性の高い IgG1, IgG3 サブクラスで有意に CD137 の発現が増加した ($p < 0.001$)。さらに NK 細胞の FcγR には FcγRIIIA の一塩基多型が存在し、感染症や抗腫瘍効果に影響していることが報告されており、FcγRIIIA の一塩基多型についても検討したところ、</p>			

158F (V/F、F/F) と比較し、158V/V の NK 細胞で有意に CD137 の発現を認めた ($p = 0.014$)。CD137 の発現誘導には $Fc\gamma R$ と Fc 構造の親和性が深く関与していると考えられた。

以上の結果から、胃癌においても、rhCD137L の投与により NK 細胞の ADCC 活性を増強することを明らかにした。さらに NK 細胞の CD137 発現が、抗体の Fc 構造および $Fc\gamma RIII A$ の遺伝子多型に伴う親和性に依存することを明らかにした。CD137 は胃癌における免疫化学療法の新たな標的分子となりうる可能性が示唆された。

よって審査委員会委員全員は、本論文が三隅俊博に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	三隅 俊博
学位授与の条件	学位規則第4条第①・②項該当		
論文題目 Stimulation of natural killer cells with rhCD137 ligand enhances tumor-targeting antibody efficacy in gastric cancer (rhCD137 リガンドによる NK 細胞刺激により胃癌に対する分子標的薬の効果は増強する)			
最終試験担当者			
主査	教授	大毛 宏喜	印
審査委員	教授	松浦 伸也	
審査委員	准教授	大上 直秀	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成31年2月7日の第78回広島大学研究科発表会（医学）及び平成31年2月8日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 胃癌組織における CD137 と CD137L の発現 2 腫瘍細胞に対する NK 細胞の ADCC における共刺激シグナルの詳細 3 NK 細胞の表現型とサイトカイン分泌能の関連 4 宿主における NK 細胞の免疫賦活法 5 臨床応用への課題と展望 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			