

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	門田 絃樹
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 Anti-Programmed Cell Death-1 Antibody and Dasatinib Combination Therapy Exhibits Efficacy in Metastatic Colorectal Cancer Mouse Models （転移性大腸癌マウスモデルにおいて抗 PD-1 抗体とダサチニブの併用療法は有効性を示す）			
論文審査担当者			
主査	教授	大毛 宏喜	印
審査委員	教授	杉山 一彦	
審査委員	准教授	上村 健一郎	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>【背景】 抗 PD-1 抗体を含む免疫チェックポイント阻害剤は、近年臨床において優れた結果を示しているが、大腸癌に対する免疫チェックポイント阻害剤の効果は限定的である。大腸癌の免疫反応に影響を与えるメカニズムの解明が求められており、腫瘍の免疫応答を高める免疫チェックポイント阻害剤との併用療法はがん生物学の分野で大きな関心事となっている。癌関連線維芽細胞（CAF）は、大腸癌組織に多く存在し、癌の発育、進展に促進的に働くことが知られており、我々は以前、この CAF が免疫細胞浸潤の障壁として働いていると考え、同所移植を用いた大腸癌マウスモデルにおいて、CAF に高発現している血小板由来増殖因子受容体（PDGFR）を標的とした薬剤と抗 PD-1 抗体との併用療法が有効であることを報告した。しかし、転移性大腸癌に対するこの併用療法の有効性は明らかになっておらず、その有効性を検討する必要があると考えた。また大腸癌原発巣における CAF と転移巣における CAF の関連性や CAF と腫瘍免疫の関連性も解明されておらず、これらを解明することで CAF を標的とした薬剤と免疫療法の併用が転移性大腸癌に対する合理的な治療戦略となる可能性があると考えた。また近年、腫瘍免疫の組織学的分類として免疫細胞が癌胞巣に浸潤する Inflamed type、免疫細胞が間質に集積するが癌胞巣に浸潤しない Excluded type、腫瘍免疫微小環境に免疫細胞が存在しない Desert type という三つの組織表現型が提案されており、これらの表現型間の間質の関連を調べ、間質に応じた表現型を再現したマウスモデルを作成し、治療実験を行うこととした。</p> <p>【目的】 CAF を標的とする PDGFR 阻害剤ダサチニブと免疫療法の併用療法の有効性を肝転移マウスモデルで評価することを目的とした。</p> <p>【実験デザイン】</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ヒト大腸癌切除症例を免疫組織化学的解析により、Inflamed type、Excluded type、Desert type に分類し、腫瘍間質を評価した。 ・マウスの脾臓にマウスの大腸癌細胞株を単独移植し人工的な肝転移を発生させることで Inflamed type の、大腸癌細胞株と CAF と混合移植することで Excluded type の癌微小環境を再現した実験的肝転移マウスモデルを作成し、治療実験を行った。治療における免疫チェックポイント阻害剤には抗 PD-1 抗体を、CAF を標的とした薬剤として PDGFR 阻害剤のダサチニブを使用した。 ・Excluded type の大腸癌肝転移モデルにおいて抗 PD-1 抗体単独治療を行ったマウスとダサチニブとの併用治療を行ったマウスより肝転移腫瘍をそれぞれ採取し、RNA-sequencing（RNA-seq）分析および遺伝子セット濃縮分析（GSEA）を行い、分子経路の差分変調を解析した。また、フローサイトメトリー（FCM）による免疫細胞表面抗原発現の解析を行った。 			

【結果】 ヒト大腸癌検体を CD8 免疫染色により、Inflamed type、Excluded type、Desert type の免疫組織表現型に分類したところ、Excluded type が最も多く (54.5%)、Inflamed type は最も少なかった (10.3%)。表現型分類とその他の臨床病理学的特徴 (性別、年齢、腫瘍局在、腫瘍期、血管侵襲、組織型など) との間に関連は認められなかった。表現型毎の原発巣における CAF マーカー α -SMA の陽性免疫染色の面積を定量化し、原発巣における CAF の占有率との関係を検証したところ、Excluded type と Desert type では、Inflamed type よりも有意に高いことがわかった。肝転移を有する症例について原発巣の CAF 占有率と肝転移巣の CAF 占有率の相関を調べた結果、2 つの病巣の間には、相関係数 0.61 の相関関係があり、原発巣において CAF が豊富な症例は、肝転移巣においても CAF が豊富である傾向を示した。

マウスモデルでは、Inflamed type の肝転移病変に対して抗 PD-1 抗体単独で良好な治療効果が確認された。一方、Excluded type の肝転移病変に対しては抗 PD-1 抗体単独では効果がなかったが、ダサチニブとの併用で抗腫瘍効果が認められた。

GSEA により、併用療法群では抗 PD-1 単剤群と比較して、T 細胞関連、B 細胞関連、サイトカイン関連の経路を含む複数の免疫関連経路の亢進を認めた。また細胞外マトリックス形成、コラーゲン、PDGFR シグナルに関連する経路は、併用療法群で有意に抑制されていた。これらの結果は、PDGFR シグナル伝達経路を遮断し、腫瘍間質を抑制することで、免疫療法誘発 T 細胞を促進することを示した。

FCM 解析により、CD3 陽性細胞集団が、抗 PD-1 単剤投与群よりも併用投与群で高いことが判明した。さらに、エフェクターメモリー T 細胞およびエフェクター T 細胞の集団は、CD4 陽性細胞および CD8 陽性細胞の両方で、併用療法群において有意に増加しており、併用療法により長期的な腫瘍特異的 T 細胞再応答の確立が促進されることが示唆された。

【結論】 転移性大腸癌における CAF の存在は、免疫回避に寄与しており、抗 PD-1 抗体とダサチニブの併用療法は、免疫療法単独では無効な転移性大腸癌患者に対する治療として有効である可能性が示唆された。

上記の研究は、転移性大腸癌における CAF の免疫回避機構を明らかにし、抗 PD-1 抗体とダサチニブの併用療法の有効性を明らかにした新規性が高く評価される。よって審査委員会委員全員は、本論文が門田 紘樹に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。