

論文審査の要旨および担当者

愛知学院大学

報告番号	① 乙	第 号	論文提出者名	近藤 祐太郎
論文審査 委員氏名	主査		長尾 徹	
	副査		野本 周嗣 前田 初彦	
論文題名	口腔扁平上皮癌におけるトランスフォーミング増殖因子 β の阻害は細胞傷害性 T 細胞の抗原特異的応答を改善する			

インターネットの利用による公表用

近年、口腔扁平上皮癌 (OSCC) に対する治療法として免疫療法が普及し始めている。しかし、その奏効率は約 10-20%程度にとどまっており、腫瘍微小環境 (TME) についてさらなる解明が必要とされている。トランスフォーミング増殖因子 β (TGF- β) は制御性 T 細胞 (Treg) や癌関連線維芽細胞の誘導、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) やナチュラルキラー細胞の機能を阻害し、免疫抑制的な TME を形成する。TGF- β の発現は口腔癌を含む様々な癌において亢進しており、今後の癌免疫療法における重要なターゲットとなる可能性がある。そこで本研究では、OSCC 細胞株とその特異的 CTL を使用し、TGF- β が CTL の機能に与える抑制効果を *in vitro* で検討した。さらに、OSCC 組織における *TGFBI* mRNA の発現と T 細胞の浸潤を、それぞれ *in situ* hybridization と多重蛍光免疫組織化学染色によって解析した。

本研究で得られた結果を以下に示す。

まず、健常人の末梢血単核球 (PBMC) からウイルス抗原特異的 CTL を *in vitro* で誘導することで、プライミング期の腫瘍抗原特異的 CTL による免疫反応を再現した。TGF- β 1 は抗原ペプチド刺激による PBMC からの抗原特異的 CTL の誘導を抑制し、TGF- β 受容体 I 阻害剤による TGF- β シグナル伝達の阻害は抑制を解除した。ドナーの HLA を変更した場合、抗原の種類を変更した場合にも同様の結果が得られた。

次に、抗原特異的 CTL のサブセットの推移を解析した。0 日目は、50%がセントラルメモリー T 細胞 (TCM; CCR7⁺CD45RA⁻)、32.1%がエフェクターメ

モリーT細胞(TEM; CCR7⁻CD45RA⁺)であった。7日目には、TCM分画の割合は18.6%に減少し、TEM分画の割合は57.1%に増加し、分化の促進が示唆された。一方、TGF- β 1を添加した場合のTCM分画の割合は82.5%に増加し、逆にTEM分画の割合は10.0%に減少し、分化の抑制が示唆された。

続いて、上述の方法で誘導したCTLと、誘導に使用した抗原を強制発現させたOSCC細胞株を共培養することで、癌抗原特異的な細胞傷害活性を*in vitro*で再現し、エフェクター期のCTLに対するTGF- β の影響を検討した。

WST-1アッセイとアネキシンVアッセイの双方において、TGF- β 1によるCTLの細胞障害活性の抑制を認めた。また、TGF- β 1の添加によりTNF- α およびIFN- γ 産生の抑制を認めた。さらに、TGF- β 1によるCTLの細胞増殖およびBrdU取り込みの抑制を認めた。TGF- β 受容体I阻害剤によるTGF- β シグナル伝達阻害は、これらの機能抑制を解除した。

最後に、OSCC組織における*TGFBI* mRNAの発現とT細胞浸潤を、それぞれRNA-*in situ* hybridizationと多重蛍光免疫染色で解析した。*TGFBI* mRNAは、主に癌細胞の浸潤先端部に発現する傾向があり、その発現量は間質中よりも高かった($p < 0.0001$)。また、*TGFBI* mRNAの発現は、隣接正常上皮細胞と比較して癌巣に多く認められた($p < 0.0001$)。さらに、*TGFBI* mRNA発現とCD8⁺T細胞/Treg比およびCD8⁺Ki-67⁺T細胞数との間に有意な負の相関関係が認められた(それぞれ $p = 0.038$ 、 $p = 0.041$)。

以上の結果により、TGF- β がプライミング期およびエフェクター期の抗原

(論文審査の要旨)

No. 3

(2000字以内のこと)

愛知学院大学

特異的CTLの機能を抑制することが明らかになった。さらに、TGF- β はCD8⁺T細胞/Treg比を低下させることで、抑制性のTMEを形成することが示唆された。これらの結果は、TGF- β の阻害が、免疫チェックポイント阻害剤とは異なるメカニズムで免疫抑制性TMEを回復させることを示しており、これらの阻害剤の併用がOSCCの新たな治療戦略につながる可能性が示唆された。

本研究で得られた知見は、OSCCに対する免疫療法の今後の発展において重要な知見を有している。よって、本研究は口腔外科学、外科学、口腔病理学ならびに関連学に寄与するところが大きく、博士(歯学)の学位授与に値するものと判定した。