

氏名（本籍）	杉井 成志		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9940 号		
学位授与年月	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	HVJ-E containing PD-L1 siRNA inhibits immunosuppressive activities and elicits antitumor immune responses in glioma (PD-L1 に対する siRNA を封入した HVJ-E はマウスグリオーマにおいて免疫抑制性の環境を改善し抗腫瘍効果を惹起する)		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	小田 竜也
副査	筑波大学講師	博士（医学）	中山 雅博
副査	筑波大学講師	博士（医学）	坂本 規彰
副査	筑波大学助教	博士（医学）	鍋倉 宰

## 論文の内容の要旨

杉井成志氏の博士学位論文は、未だ治癒が困難な膠芽腫を、免疫チェックポイント機構を阻害する核酸送達により制御する新たな抗腫瘍免疫治療に関するものである。マウス膠芽腫モデルにおける PD-L1 に対する siRNA を封入した HVJ-E の治療効果を検討した研究の要旨は以下のとおりである。

（背景）膠芽腫は極めて悪性な脳原発の腫瘍であり、著者はその疫学・診断・標準治療および補助的な治療について詳細に述べている。膠芽腫は現在の医療進歩をもってしても未だ治癒が困難であり、新しい治療を挑戦的に開発する意義について明快に示している。著者は、近年着目されている免疫チェックポイント機構や免疫チェックポイント阻害剤が、いまだに膠芽腫に対して検討が十分なされていないことから、これらのアプローチが有効である可能性があると考えた。著者は先行研究に基づき、免疫チェックポイントを阻害する事は核酸（siRNA）で行う事とし、そのベクターとしては不活化センダイウイルス粒子（HVJ-E）の利用を想定して、その安全性やベクターそのものが抗腫瘍免疫を惹起する特性について言及している。そして、本研究の主題である膠芽腫診療におけるクリニカルクエスションと絡めてまとめている。

（目的）著者は、HVJ-E をベクターとして PD-L1 発現阻害核酸（siRNA）を腫瘍へ届けることにより、極めて悪性な膠芽腫に対する治療を目指した。HVJ-E 自体の抗腫瘍免疫活性化作用と、導入した siRNA による腫瘍 PD-L1 分子発現阻害を組み合わせることで、相乗的な抗腫瘍免疫応答の活性化が期待できる新規免疫療法の開発研究を行っている。

(対象と方法) 上記の背景を踏まえ、著者は C57BL/6 マウス由来の glioma stem-like cell である TS 細胞を、マウス皮下および、脳に移植した腫瘍モデルを研究対象として用いた。抗腫瘍免疫をそれ単独でも惹起する HVJ-E をベクターとして用い、PD-L1 を阻害する siRNA を封入し (=siPDL1/HVJ-E)、腫瘍内に直接注入した。著者は抗腫瘍免疫応答を評価する為、腫瘍局所での免疫細胞浸潤の変化も調べている。抗腫瘍免疫応答の機序を評価する為、抗 CD8 抗体を投与して CD8<sup>+</sup> T リンパ球を除去した系を用いている。

(結果) 著者は、予備実験含め、複数の *in vitro* および *in vivo* での実験を行っている。その結果、著者は、マウス腫瘍モデルにおいて腫瘍の PD-L1 の発現を *in vivo* で抑制できること、マウス皮下腫瘍モデルで有意な腫瘍縮小効果および生存期間延長が得られること、更にマウス脳腫瘍モデルにおいて有意な生存期間延長が得られることを明らかにしている。これら抗腫瘍効果は、腫瘍周囲に浸潤する CD8<sup>+</sup> T リンパ球をはじめとするエフェクター T 細胞の増加および免疫抑制性の制御性 T 細胞 (Treg) が減少することに起因しており、CD8 除去試験により抗腫瘍免疫の主体は CD8<sup>+</sup> T リンパ球であると、著者は述べている。

(考察) 考察においては、結果の小括をまず記したのち、膠芽腫がいかに難治でありどのような治療の変遷をたどってきたか、臨床で求められているものは何か、膠芽腫をはじめとする悪性腫瘍に対する抗腫瘍免疫とその抑制や阻害薬について、HVJ-E の安全性・抗腫瘍免疫への働きかけ・Treg の抑制機序、腫瘍周囲へ浸潤が見られた各免疫細胞について考察、本研究の臨床応用にむけての展望などが、多数の参考文献を引用して論理的かつ詳細に述べられている。

著者は、実験結果や背景・考察の理解を助ける為の「図」についても非常に作りこんでおり、注釈も過不足ない説明が盛り込まれている。

## 審査の結果の要旨

(批評) 非常に難治性である膠芽腫に対する腫瘍免疫治療効果を最大限に発揮させる為、siRNA を介した腫瘍 PD-L1 の阻害だけでなく、免疫刺激性と Treg 抑制効果の特徴を併せ持つベクターである HVJ-E を用いるという治療戦略デザインは、ユニークかつ理に適ったものである。実際、siPDL1/HVJ-E 投与によりマウス膠芽腫モデルに対して強力な抗腫瘍免疫応答が惹起された事は特記すべき成果である。更に、現象論に留まらず、特に CD8<sup>+</sup> T リンパ球によって抗腫瘍効果がもたらされていたという免疫機構を解明した点も高く評価できる。

令和 3 年 1 月 12 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。