

京都大学	博士 (医学)	氏 名	西江 万梨子
論文題目	Downregulated ATP6V1B1 expression acidifies the intracellular environment of cancer cells leading to resistance to antibody-dependent cellular cytotoxicity (ATP6V1B1 の発現低下は癌細胞の細胞内環境を酸性化し、抗体依存性細胞傷害に対する抵抗性をもたらす)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>HER2 陽性乳癌は原発性乳癌の 15%-20%を占める悪性度の高い癌であるが、HER2 標的単クローン抗体トラスツズマブの導入により、その治療成績は飛躍的に改善した。しかし、一方でトラスツズマブに抵抗性を示す乳癌も少なくなく、治療抵抗性機序の解明と新しい治療法開発は乳癌治療の重要な課題の一つとなっている。トラスツズマブの薬効機序には、HER family の二量体形成による細胞内シグナル伝達の遮断、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) などが知られており、HER family 下流分子の発現や機能の異常はトラスツズマブの耐性に関与するとされる。他方、Her2 陽性癌細胞のトラスツズマブを介した抗体依存性細胞傷害 (ADCC) に対する耐性メカニズムについてはほとんどわかっていない。そこで本研究では、Her 2 陽性癌細胞の ADCC 耐性機序に関する研究を行った。</p> <p>ADCC による細胞死は、NK 細胞から放出されるグランザイムによって誘導される標的細胞のアポトーシスにより、惹起される。最適なグランザイムの生理活性は中性 pH で発生するため、細胞内環境の pH 変化がグランザイム誘導細胞障害活性に影響を与えると仮説を立てた。HER2 陽性乳癌細胞株(SKBR3)を用い、ADCC 耐性株(SKr)を樹立し、細胞内 pH 調節に関わる遺伝子の発現を野生株と比較したところ、V-ATPase の構成要素をコードする ATP6V1B1 の発現が SKr で低下していた。ATP6V1B1 を機能的に解析するため、CRISPR/Cas9 システムを用い、ATP6V1B1-KO-SKBR3、ATP6V1B1-KO-JIMT-1 細胞を作製したが、得られた細胞における ADCC 活性は野生株の ADCC 活性よりも有意に低く、KO 細胞の細胞内 pH は野生株よりも有意に低かった。細胞内グランザイム量をフローサイトメトリで分析したところ、グランザイム量は野生株細胞内に比べ KO 細胞において有意に高く、グランザイムの細胞内動態を免疫細胞染色で確認したところ、野生株では細胞質へ移行し徐々に分解されるが、KO 細胞ではグランザイムは分解されず細胞内に蓄積していた。KO 細胞に対する細胞毒性は低く、細胞内 pH 変化がグランザイムの細胞障害活性に影響したと考えられた。これらの研究結果は、トラスツズマブ耐性機序の一つとして、V-ATPase 活性の低下により細胞内 pH 環境が変化し、癌細胞のアポトーシス誘導に影響するグランザイムの生理活性に適さない環境の形成があることを示している。本研究は、抗 HER2 抗体に対する耐性機序の解明に寄与し、新しい抗 HER2 療法の開発につながると考えられる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

HER2 陽性乳癌におけるトラスツズマブを介した antibody dependent cellular cytotoxicity (ADCC) に対する耐性メカニズムについては未だ不明な点が多い。ADCC による癌細胞死は、NK 細胞が放出するグランザイムのアポトーシス誘導により惹起されるが、このグランザイムの生理活性は環境の pH により厳格に制御される。研究者らが独自に樹立した ADCC 乳癌耐性株では、細胞内 pH 制御分子 V-ATPase のサブユニットの一つである ATP6V1B1 遺伝子の発現減弱が確認された。同遺伝子の knock-out (KO) 細胞を作製しトラスツズマブを介した ADCC アッセイを行ったところ、KO 細胞では親株に比べ有意に ADCC 活性が抑制された。また KO 細胞では細胞内 pH の有意な低下が確認された。ADCC 反応中の癌細胞内におけるフローサイトメトリーによるグランザイム動態解析では、親株においては 45 分でグランザイムが消失する一方 KO 細胞ではグランザイムの蓄積が確認された。以上の結果から、ATP6V1B1 発現減弱による癌細胞内 pH 低下がグランザイム生理活性を阻害することでトラスツズマブを介した ADCC 活性を抑制する可能性が示唆された。本研究成果は今後の更なる ADCC 耐性メカニズムの解明に向けた研究の基盤となり得ると考える。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、令和 3 年 1 月 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降