

甲 第 号

森本堯之 学位請求論文

審 査 要 旨

奈 良 県 立 医 科 大 学

論文審査の要旨及び担当者

	委員長	教授	吉川正英
論文審査担当者	委員	教授	國安弘基
	委員(指導教員)	教授	中瀬裕之

主論文

CRISPR-Cas9-Mediated TIM3 Knockout in Human Natural Killer Cells Enhances Growth Inhibitory Effects on Human Glioma Cells.

CRISPR-Cas9を用いてTIM3をノックアウトしたヒトNK細胞の膠芽腫細胞株に対する抗腫瘍効果の検討

Takayuki Morimoto, Tsutomu Nakazawa, Ryosuke Matsuda, Fumihiko Nishimura,

Mitsutoshi Nakamura, Shuichi Yamada, Ichiro Nakagawa, Young-Soo Park

Takahiro Tsujimura, Hiroyuki Nakase

International Journal of Molecular Science, 2021, 22, 3489

28 March 2021 (on-line publish)

論文審査の要旨

膠芽腫は原発性脳腫瘍の中でも最も悪性度が高く、予後不良な腫瘍の一つであり、新たな治療法の開発が期待されている。NK細胞の細胞傷害活性を利用して腫瘍増大の制御を期待する免疫療法もその一つである。申請者は、膠芽腫の免疫逃避機構として考えられるチェックポイント機構について着目し、抑制性受容体のひとつであるTIM3をCRISPR-Cas9システムを用いてノックアウト(KO)したヒト初代NK細胞の膠芽腫細胞への抗腫瘍効果について解析を行っている。健常人の末梢血よりNK細胞を単離し、CRISPR-Cas9を用いてTIM3をコードするHAVCR2のexon2とexon5をターゲットにTIM3のノックアウトを行い、Real Time Cell Analyzer(RTCA)を用いて膠芽腫細胞株への抗腫瘍効果を解析するとともに、ゲノム編集後のNK細胞のon target/ off target効果についても解析を行っている。まず、on target / off target効果の解析にて目的遺伝子領域に対する確実なゲノム編集とその他の遺伝子領域にはほとんど影響を与えていないことが確認された。さらに、RTCAにおける抗腫瘍効果の検討では、TIM3ノックアウトNK細胞では2種類の膠芽腫細胞株(T98G, LN-18)に対する抗腫瘍効果の増強を観察している。

CRISPR-Cas9を用いたTIM3ノックアウトヒトNK細胞を作成し、膠芽腫細胞株に対する抗腫瘍効果の増強を証明した本研究は、膠芽腫に対するデザイナー細胞療法の分野において、NK細胞療法の可能性を大きく広げるものと思われる。質疑に対する回答も的確であった。

参 考 論 文

1. Evaluation of comprehensive gene expression and NK cell-mediated killing in Glioblastoma cell line-derived spheroids.
Morimoto T, Nakazawa T, Matsuda R, Nishimura F, Nakamura M, Yamada S, Nakagawa I, Park Y S, Tsujimura T, Nakase H. *Cancers (Basel)* 2021 Sep 29;13(19):4896. doi: 10.3390/cancers13194896.
2. Ex vivo expanded and activated Natural killer cells prolong the overall survival of mice with Glioblastoma-like cell Derived Tumors.
Shida Y, Nakazawa T, Matsuda R, Morimoto T, Nishimura F, Nakamura M, Maeoka R, Yamada S, Nakagawa I, Park Y S, Yasukawa M, Tojo T, Tsujimura T, Nakase H. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 9975., DOI; 10.3390/ijms22189975
3. KHYG-1 cells with EGFRvIII-specific CAR Induced a pseudoprogression-like feature in subcutaneous tumours derived from glioblastoma-like cells.
Nakazawa T, Murakami T, Natsume A, Nishimura F, Morimoto T, Matsuda R, Nakamura M, Yamada S, Nakagawa I, Park Y S, Motoyama Y, Tsujimura T, Wakabayashi T, Nakase H. *Anticancer Res* 2020 Jun;40(6):3231-3237. doi: 10.21873/anticancerres.14304.
4. Effect of CRISPR/Cas9- Mediated PD-1-Disrupted Primary Human Third-Generation Car-T Cells Targeting EGFRvIII on In Vitro Human Glioblastoma Cell Growth.
Nakazawa T, Natsume A, Nishimura F, Morimoto T, Matsuda R, Nakamura M,

Yamada S, Nakagawa I, Motoyama Y, Park Y S, Tsujimura T, Wakabayashi T,

Nakase H. *Cells* 2020 Apr 16;9(4):998. doi: 10.3390/cells9040998

以上、主論文に報告された研究成績は、参考論文とともに脳神経機能制御医学の進歩に寄与するところが大きいと認める。

令和4年3月8日

学位審査委員長

生体防御・修復医学

教授 吉川正英

学位審査委員

分子腫瘍病理学

教授 國安弘基

学位審査委員(指導教員)

脳神経機能制御医学

教授 中瀬裕之