

氏名（本籍）	オウ シン エイ WANG XINYING（中国）
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	乙第1248号
学位授与の日付	2021年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	<b>A novel cancer immunotherapy using tumor-infiltrating B cells in the APC(min/+) mouse model</b> (APC(min/+) マウスモデルを用いた腫瘍浸潤 B 細胞によるがん免疫療法の試み)

論文審査委員（主査）教授 北村 大介  
教授 後飯塚 僚 嘱託教授 岩倉洋一郎  
准教授 中野 直子 教授 樋上 賀一

## 論文内容の要旨

Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) have been implicated in the good prognosis of patients with several types of cancers. Among the TILs, much attention has been focused on cytotoxic T cells, clinical application of which as so called TIL therapy have achieved a great success in some cancers. Recent reports have also suggested a correlation of tumor infiltrating B cells (TIBCs) and a good prognosis of cancer diseases. In some cases, TIBCs appear to have been antigen-experienced and clonally expanded based on their class-switching and somatic hypermutation patterns, and forms tertiary lymphoid structures around tumors together with T cells and dendritic cells. Assuming TIBCs include those that recognize some antigens expressed on tumor cells, we sought to test whether TIBCs from surgically extracted tumor tissues can be utilized for cell-mediated

immunotherapies. We previously demonstrated that splenic B cells carrying immunoglobulin transgenes encoding an antibody against hen egg lysozyme (HEL), having been expanded by our original culture system, could produce anti-HEL IgG antibodies in vivo and suppress metastatic growth of a mouse melanoma cells expressing HEL on their cell membrane (B16-mHEL), when injected intravenously into normal mice at the same timing as the B16-mHEL cells. In the present study, we modified the B cell culture system: we transduced the B cells with Bach2-ER<sup>T2</sup> so that the cells grow unlimitedly provided with tamoxifen in our culture system and they differentiate into plasma cells and produce antibodies upon withdrawal of tamoxifen and addition of heme, a Bach2-inhibitor. As shown here, thus prepared HEL-specific B cells, after intravenous injection, could inhibit growth of B16-mHEL cells that had been pre-implanted into skin and elongated the survival of recipient mice. This result suggested a potential application of antigen-specific B cells for immunotherapy and prompted us to test a possible application of TIBCs for tumor immunotherapy using APC<sup>min/+</sup> mice as a model of spontaneous intestinal tumors. TIBCs separated from the intestinal tumors of APC<sup>min/+</sup> mice were cultured as above and induced to produce antibodies which could stain the tumor but not normal area in the intestine of APC<sup>min/+</sup> mice. We repeatedly injected thus propagated TIBCs into adult APC<sup>min/+</sup> mice, which suppressed growth of intestinal tumors and elongated the survival of the recipient mice, perhaps through binding to some tumor-specific antigens by antibodies produced by the injected TIBCs. These data indicate a possibility of TIBC-mediated immunotherapy for cancer patients.

### 論文審査の結果の要旨

本論文は腫瘍内に存在する腫瘍浸潤 B 細胞 (TiBc) を用いた免疫療法モデルについての研究内容を記載している。TiBc の抗原受容体の多くはクラススイッチし変異を有して

いることことから、がん組織の何らかの抗原に反応して T 細胞依存性に形成された記憶 B 細胞と考えられる。よって、この TiBc から産生されうる抗体はがん抗原に結合し、免疫療法への応用が可能である。申請者は、腫瘍内に少数存在する TiBc を長期に培養して増やし、任意に形質細胞に分化させ、抗体を産生させる技術を確立した。この TiBc およびその抗体の臨床応用を目指して、腸管腫瘍を自然発症する APC<sup>min/+</sup>マウスをモデルとして研究を行っている。APC<sup>min/+</sup>マウスの腫瘍に浸潤する TiBc を培養し、まず、それらが産生する IgG 抗体が APC<sup>min/+</sup>マウスの腫瘍組織に結合し、正常腸組織にはほとんど結合しないことを蛍光免疫染色で確認した。次に、この TiBc を APC<sup>min/+</sup>マウスに頻回に移入すると、腸管腫瘍形成が抑制され、組織染色では腫瘍の増殖が低下してアポトーシスが亢進し、また、マウスの生存期間が延長することを見出した。さらに、TiBc を移入されたマウスの血清 IgG は蛍光免疫染色では APC<sup>min/+</sup>マウス腫瘍組織に選択的に結合し、ウェスタンブロットでは正常腸管組織にないタンパクを認識することが示された。以上の結果より、APC<sup>min/+</sup>マウス腫瘍由来の培養 TiBc が移入先の APC<sup>min/+</sup>マウス体内で形質細胞に分化し、それらが産生した抗体が何らかの腫瘍抗原に結合し、腫瘍増殖を抑制したと考えられると結論している。この結果は、がん患者から切除された腫瘍中の TiBc を培養して増やし、それらが産生する抗体や、その細胞自体を同じ患者に移入するという個別免疫療法の可能性を示している。本論文に記載された研究内容は充実しており、結論を導くのに十分な実験結果を含み、また、臨床医学への応用に繋がる重要な結果を記述している。したがって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分に価値があるものと判定する。