

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
鄭栄植	主査 教授 谷川 允彦 副査 教授 勝 健一 副査 教授 芝山 雄老 副査 教授 佐野 浩一 副査 教授 森 浩志
主論文題名 Oncolytic recombinant herpes simplex virus for treatment of orthotopic liver tumors in nude mice (攻撃型ヘルペスウイルスを用いた肝腫瘍に対する治療効果の検討)	
学位論文内容の要旨	
<p><背景および研究目的></p> <p>癌の遺伝子治療を成功させるためには、全身に無秩序に散らばって転移している腫瘍を特異的に標的化できるベクターが必要である。ウイルスベクターを用いた遺伝子治療のアプローチは、進行した消化器がんに対する未来の治療法として大いに期待されている。なかでも腫瘍に対して選択的に増殖する殺腫瘍ウイルス (oncolytic virus) を用いる治療は、進行癌の治療として従来から行われてきた化学療法・放射線療法・サイトカイン療法などと交差耐性を示さない高い治療効果と選択性が期待されるものである。世界中でさまざまなウイルスが実験・検討されている。現在、遺伝子治療臨床研究が進行している殺腫瘍ウイルスとしては、制限増殖型のアデノウイルスとヘルペスウイルスがあり、欧米ではその遺伝子治療臨床研究がかなり進んで来たので、結果が注目されている。2006年2月現在、日本では京都大学や名古屋大学で臨床研究がスタートしている。われわれは、特定の腫瘍細胞のみを選択的に攻撃する遺伝子組換えヘルペスウイルスを作製し、臨床応用に向けての有用性を検討してきた。その過程で生じるひとつの問題点として、ウイルスの投与方法が挙げられてきた。従来、治療ベクターの腫瘍内投与が行われてきたが、そのような局所投与方法では転移腫瘍を持つ患者の治療には実用的とは言えない。全身投与できるベクター作りを目指して、腫瘍組織特異的なプロモーターで細胞傷害性遺伝子を発現させたり、腫瘍選択的に増殖するベクターが開発されてきたが、ほとんどは限られた少数の腫瘍細胞に取り込まれて発現するのみで、汎用性に乏しいものであった。血液で運ばれるウイルスを全身投与し、転移した腫瘍細胞に特異的に感染させ、殺腫瘍効果を誘導できることを示すのがこの分野でのひとつの重要課題となっている。</p> <p><目的></p> <p>攻撃型遺伝子組換えヘルペスウイルスであるG92Aの脾臓から投与した場合の肝腫瘍に対する治療効果を検討した。</p> <p><対象および方法></p> <p>複製可能型遺伝子組換えヘルペスウイルスとしてアルブミン産生性の腫瘍細胞のみを選択的に攻撃するG92Aと分裂細胞に特異的な複製を示すが、組織特異性は示さない</p>	

hrR3を用いた。対象とする腫瘍細胞は、アルブミンを産生するヒト肝細胞癌であるhep3Bとアルブミンを産生しないヒト大腸癌であるHT29を用いた。まず、それぞれの腫瘍細胞に対するG92AとhrR3の感染増殖による細胞障害性をin vitroのsingle step growth assayにて検討した。次にこれらの腫瘍細胞を肝臓に直接投与することによりヌードマウスの肝腫瘍モデルを作製した。腫瘍細胞投与の7日後、それぞれのモデルの脾臓よりG92AとhrR3、virus bufferを投与し、経時的变化を観察した。腫瘍細胞投与後35日目に切除した肝臓の肉眼所見および肝重量を測定した。次に、これらの遺伝子組換えヘルペスウイルスを脾臓から投与して3日後のモデルから肝臓を摘出し、X-gal染色による正常肝臓および肝腫瘍の病理所見を観察、この投与経路での肝腫瘍に対する組織選択性と抗腫瘍効果を検討した。生存曲線による検討も加えて、われわれの作成したG92Aの有効性を検討した。

< 結果 >

in vitroの実験結果から組織特異性のないhrR3は両方の腫瘍細胞に対して細胞障害性を認めたのに対し、G92Aはアルブミンを産生しているhep3Bに対して細胞障害性を認めるものの、HT29にたいしては効果がないことが確認された。in vivoの実験結果でも、肉眼所見と肝重量からみてhep3Bに対してはG92AとhrR3とも明らかな抗腫瘍効果が認められた($p<0.01$)のに対し、HT29に対してはhrR3で抗腫瘍効果を認める($p<0.01$)もののG92Aでは抗腫瘍効果は認められなかった。X-galによる染色標本の病理所見では、hrR3が両方の腫瘍細胞に感染を認めるだけでなく、正常肝細胞にも感染しているのが疑われた。これに対し、G92Aはhep3Bには選択的に感染しているもののHT29への感染は認められなかった。hep3BのモデルにおいてG92AとhrR3は、共にcontrol群に対し生存期間を有意に延長($p<0.05$)したが、両者の間に有意差は認められなかった。HT29のモデルでは、hep3Bのみが有意に生存期間を延長した($p<0.05$)。

< まとめ >

腫瘍選択的ウイルス療法(virotherapy)は、ウイルスの感染と増殖の特質と腫瘍細胞の由来組織やがん化の機構との特異的な関わり合いを巧みに利用したものである。攻撃型遺伝子組換えヘルペスウイルスであるG92AとhrR3は、脾臓から門脈血流に乗せて投与した場合でも、その選択性と抗腫瘍効果、生存曲線から肝腫瘍に対する治療の有効性が認められた。今後、長い将来にわたって遺伝子治療にウイルスベクターが役割を持ち続けるとすれば、脾臓からのアプローチが肝腫瘍に対して有効であったという今回の結論が、全身投与へ向けた一つの有力なステップになると考えられた。自己複製能を有する組換えウイルスベクターは、理論的にはわずかのウイルスベクターの感染が成立すれば、標的細胞の破壊が期待できる優れた治療手段と考えられる。しかしながら、反面その複製を厳密にコントロールしなければならず、安全性の検討が他のベクターシステムにも増して必要とされる。申請者等の作製した腫瘍選択性を持たせたG92Aは、その安全性から、hrR3に勝っており、近い将来、臨床の場で治療方法の選択肢となる可能性が高いものと考えられた。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	鄭 栄 植
論文審査担当者		主 査 教授 谷 川 允 彦 副 査 教授 勝 健 一 副 査 教授 芝 山 雄 老 副 査 教授 佐 野 浩 一 副 査 教授 森 浩 志	
主論文題名 Oncolytic recombinant herpes simplex virus for treatment of orthotopic liver tumors in nude mice (攻撃型ヘルペスウイルスを用いた肝腫瘍に対する治療効果の検討)			
論文審査結果の要旨			
<p>ウイルスベクターを用いた遺伝子治療はウイルスの感染と増殖の特質と腫瘍細胞の由来組織やがん化の機構との特異的な関わり合いを巧みに利用したもので、進行した消化器がんに対する未来の治療法として大いに期待されている。なかでも腫瘍に対して選択的に増殖する攻撃型ウイルスは、進行癌の治療として従来から行われてきた化学療法・放射線療法・サイトカイン療法などと交差耐性を示さない高い治療効果と選択性が期待されるものである。申請者が今回実験に使用したのは共同研究者の一人が作製し、臨床応用に向けて取り組んでいる遺伝子組換えヘルペスウイルス G92A である。臨床応用に向けての過程で生じるひとつの問題点として、ウイルスの投与方法が挙げられる。従来、治療ベクターは腫瘍内投与が行われ報告されてきたが、そのような局所投与方法では転移腫瘍を持つ患者の治療には実用的ではなかった。欧米では、さまざまな投与方法での検討がなされ、制限増殖型アデノウイルスとヘルペスウイルスの遺伝子治療の臨床研究がかなり進展して来ており、その結果が注目されているが、本邦ではまだ発展途上である。ウイルスを全身投与し、転移した腫瘍細胞に特異的に感染させ、殺腫瘍効果を誘導できることを示すのがこの分野でのひとつの重要課題となっている。本学で作製された攻撃型遺伝子組換えヘルペスウイルスである G92A が、脾臓から門脈血流を經由して投与した場合でも、その選択性と抗腫瘍効果、生存曲線から肝腫瘍に対する治療の有効性が認められたという申請者が示した今回の結論は、G92A の臨床応用へ向けた一つの実力なステップになると考えられる。これらの研究結果は今後の新しい癌治療の確立ひいては癌患者の予後の向上に資するところ大なるものとする。</p> <p>以上より、本論文は本学大学院学則第9条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。</p> <p>主論文公表誌 International Journal of Oncology 28: 793-798, 2006</p>			