

|         |                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 学位授与番号  | 甲第 1581 号                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 学位授与年月日 | 平成 15 年 6 月 30 日                                                                                                                                                                                                                                           |
| 氏名      | 土山 智也                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 学位論文題目  | Enhanced antitumor effects of a bicistronic adenovirus vector expressing both herpes simplex virus thymidine kinase and monocyte chemoattractant protein-1 against hepatocellular carcinoma<br>(自殺遺伝子と単球走化因子を用いた bicistronic アデノウイルスベクターによる肝癌に対する抗腫瘍効果の増強) |
| 論文審査委員  | 主査 教授 中尾 眞 二<br>副査 教授 馬 淵 宏<br>教授 須 田 貴 司<br>教授 中 沼 安 二                                                                                                                                                                                                    |

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

自殺遺伝子 (herpes simplex virus thymidine kinase, HSV-tk) を用いた癌遺伝子治療は、単独では殺腫瘍効果に限界があるため十分な成果が得られていない。本研究では、自殺遺伝子とケモカイン単球走化因子(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)を同時に発現するアデノウイルスベクター (rAd) を作製し、肝癌に対する免疫遺伝子治療の可能性を検討した。CAG プロモーターと internal ribosomal entry site (IRES) を用いた 2 種類の bicistronic rAd (Ad-tk-MCP1、Ad-MCP1-tk)、及び CAG プロモーターにより両遺伝子を単独で発現する Ad-tk、Ad-MCP1 を作製し、ヒト肝癌細胞株 HuH7 を用いて種々の検討を行った。(1) in vitro における MCP-1、tk 産生量、殺細胞効果の比較、(2) 皮下腫瘍ヌードマウスモデルでの抗腫瘍効果、(3) 皮下腫瘍 (HuH7) 部における免疫組織学的検討、並びに TNF-alpha の発現レベルの評価を行った。結果は以下のように要約される。

1. ベクターを感染させた HuH7 からの MCP-1 産生量は、Ad-MCP1 に比し、Ad-MCP1-tk は約 33%、Ad-tk-MCP1 は約 2% であった。
2. 一方 HSV-tk 産生量は、Ad-MCP1-tk では Ad-tk の約 1%、Ad-tk-MCP1 は Ad-tk とほぼ同等であった。
3. in vitro におけるガンシクロピルの殺細胞効果とベクター感染 HuH7 からの tk 産生量はよく相関していた。
4. 皮下腫瘍モデルでは、Ad-tk-MCP1 接種 HuH7 群は、Ad-MCP1 群、Ad-MCP1-tk 群より著明に腫瘍の増殖が抑制され、Ad-tk 群および Ad-MCP1 と Ad-tk の混合投与群より有意に高い抑制効果がみられた。
5. この抗腫瘍効果はマクロファージ活性阻害物質の投与によって有意に抑制された。
6. 組織学的検討では、他のベクター群に比し、Ad-tk-MCP1 群の皮下腫瘍部において、マクロファージの浸潤を多数認めた。また、RT-PCR により TNF-alpha の発現増強が示された。

以上の結果より、HSV-tk と MCP-1 を同時に発現する bicistronic rAd の Ad-tk-MCP1 は、MCP-1 産生量が低いにも関わらず強い抗腫瘍効果を認め、この作用機序の一つとしてマクロファージの誘導とその活性化亢進が考えられた。また、Ad-tk-MCP1 群が Ad-MCP1-tk 群より治療効果が高かったことより、両遺伝子を用いる場合は、自殺遺伝子を主とし、MCP-1 を補助的に使用するべきと思われた。

本論文は、肝癌に対する免疫遺伝子治療の新たな可能性を示唆する知見を提供しており、学位に値する研究と考えられた。