

学位授与番号	医博甲第1443号		
学位授与年月日	平成12年10月31日		
氏名	酒井佳夫		
学位論文題目	Gene therapy for hepatocellular carcinoma using two recombinant adenovirus vectors with $\alpha$ -fetoprotein promoter and Cre/loxP system $\alpha$ -フェトプロテインプロモーター, Cre/loxP 系を用いた組換えアデノウイルスベクター二重感染による肝癌遺伝子治療		
論文審査委員	主査	教授	中尾 眞 二
	副査	教授	村上 清 史
		教授	馬 淵 宏

### 内容の要旨及び審査の結果の要旨

肝癌では $\alpha$ -フェトプロテイン(AFP)が特異的に産生されているため、AFP プロモーターの下流に自殺遺伝子を組み込むことにより、肝癌特異的な遺伝子治療が可能と考えられている。しかし、AFP プロモーターの転写活性は極めて弱いため、これまでの動物実験では自殺遺伝子を十分に発現させることは困難であった。本研究では、肝癌特異的な、より効率のよい自殺遺伝子発現の方法を開発するため、AFP プロモーター・Cre/loxP 系を用いた組換えアデノウイルスベクター二重感染(二重感染)の遺伝子発現増強における有用性を検討した。

まず、無胸腺マウスを用いた肝癌播種モデルにおいて lacZ 遺伝子を発現増強の対象遺伝子として二重感染を行ったところ、肝内・肺内の播種肝癌において、AFP プロモーター下に直接目的遺伝子をつないだ「直接発現ベクター」を感染させた場合よりも明らかに強い lacZ の遺伝子発現が腫瘍特異的に観察された。自殺遺伝子であるヘルペス単純ウイルスチミジンキナーゼ(HSV-tk)を目的遺伝子とし、二重感染後の *in vitro* での遺伝子発現を、HSV-tk によるガンシクロビル(GCV)のリン酸化で評価したところ、AFP 産生肝癌においてのみ、多重感染比(MOI)100にて、直接発現ベクター感染の場合の 60 倍以上の HSV-tk 活性がみられた。また、GCV 添加後のリン酸化 GCV による殺細胞効果も直接発現ベクター感染の場合より増強された。無胸腺マウスにおける皮下肝癌モデルに、十分量のベクターを投与した場合には、二重感染、直接発現ベクター感染ともに、同等の抗腫瘍効果は認められた。しかし、投与量を減らした場合には、双方とも抗腫瘍効果は減弱し、両者の効果に差を認めなかった。この原因を明らかにするため、lacZ 遺伝子を目的遺伝子として、ベクター投与量と遺伝子発現の関係を検討したところ、二重感染により、MOI 25 以上では、直接発現ベクター感染よりも遺伝子発現は増強するものの、MOI 10 以下では、直接発現ベクター感染よりもかえって発現は減弱した。したがって、ベクター投与量が少ない場合に *in vivo* で二重感染の抗腫瘍効果が十分得られなかったのは、一つの細胞へ二種類のベクターが同時には感染しにくいことが原因の一つと考えられた。

以上本研究は、ベクターを希釈すると目的遺伝子の発現が減弱するために、自殺遺伝子による十分な抗腫瘍効果が *in vivo* では得られないという二重感染の問題点を初めて明らかにしたものであり、より強力な抗腫瘍効果を発現させるベクターを開発するうえで、重要な意義を持つものとして高く評価された。