

氏名(本籍)	ふく だ くに あき 福田 邦 明 (千葉県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博 甲 第 3446 号
学位授与年月日	平成 16 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	医学研究科
学位論文題目	E1A, E1B Double-Restricted Adenovirus for Oncolytic Gene Therapy of Gallbladder Cancer (E1A, E1B 二重制限増殖型アデノウイルスを用いた胆嚢癌の腫瘍融解遺伝子治療)
主査	筑波大学教授 医学博士 大河内 信 弘
副査	筑波大学併任教授 医学博士 石 坂 幸 人 (国立国際医療センター)
副査	筑波大学講師 博士(理学) 三 輪 佳 宏
副査	筑波大学講師 博士(医学) 小野寺 雅 史

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

癌細胞内でアデノウイルス増殖に必要な E1A, E1B 遺伝子の両者に変異を加えた新規のアデノウイルスベクター (AxdAdB-3) の胆嚢癌細胞に対する *in vitro*, *in vivo* の有効性 (殺細胞能) と正常細胞に対する安全性を, E1B 単独変異 Ad (AxE1AdB) と比較し解析を行う。

(対象と方法)

E1A, E1B 二重変異 Ad (AxdAdB-3) と E1B-55kD 単独欠損 (AxE1AdB) の 3 種のヒト胆嚢癌細胞株 (TGBC-44TKB, Mz-ChA2, Mz-ChA1) および各種ヒト正常細胞 [肝, 小腸上皮, 血管内皮初代培養細胞, 線維芽細胞株 (WI-38)] における増殖能, 細胞障害性を野生型 Ad と比較した。ウイルス増殖は力価測定と電子顕微鏡にて, 細胞融解効果は WST-1 assay により評価した。In vivo 実験は, ノードマウスの胆嚢癌皮下移植モデルと腹膜播種モデルを用い, 前者には Ad の腫瘍内注射, 後者には腹腔内投与を行った。皮下腫瘍に対しては 5-FU の併用効果も検討した。

(結果)

- 1) AxE1AdB と AxdAdB-3 は, *in vitro* にてともに胆嚢癌細胞内では野生型 Ad と同程度に増殖し, 癌細胞を融解壊死させた。
- 2) 各種正常細胞では, AxE1AdB と AxdAdB-3 の増殖は野生型 Ad に比し著しく抑制され, 細胞障害も軽微であった。両者の増殖は静止期の WI-38 細胞にて最も顕著に抑制された。AxdAdB-3 の細胞障害性は, 上皮細胞と WI-38 細胞において AxE1AdB に比し有意に軽度であった。
- 3) AxdAdB-3 は, *in vivo* でも腫瘍内で増殖し, 皮下腫瘍モデルでは, コントロールに比し有意に腫瘍増殖を抑制し, 5-FU との併用により腫瘍の完全消失を認めた。

4) AxdAdB-3 は、腹膜播種モデルでは血清腹水の出現を抑制し生存期間を有意に延長させた。

(考察)

本研究では、新規の E1A, E1B 二重変異 Ad (AxdAdB-3) の胆嚢癌に対する有効性と安全性を検討した。その結果、本 Ad が、E1B-55kD 単独欠損 Ad (AxE1AdB) に比し、胆嚢癌細胞に対し同等の抗腫瘍効果を発揮しつつ、正常細胞ではその増殖と細胞障害性が抑制され安全であることが示された。E1B-55kD を欠く AxE1AdB が p53 またはその上流シグナル (p14, mdm2, ATM など) の障害された細胞で増殖するのに対し、E1B-55kD 欠損に加え E1A にも変異を有する AxdAdB-3 は、P53 系と Rb 系 (p16, CDK2, CDK4/6 など) の両者が障害された癌細胞でのみ増殖、細胞融解を惹起し、両者が共に正常な正常細胞での増殖はより抑制され、安全性が増したと考えられる。AxdAdB-3 が in vivo でも良好な抗腫瘍効果を示し、特に腹膜播種モデルの生存期間を有意に延長したことは、腹膜播種を合併しやすい進行胆嚢癌での効果を期待させる。また AxdAdB-3 は、5-FU との併用により抗腫瘍効果が増強したが、安全性が増したことにより化学療法や遺伝子治療との併用療法が容易になると考えられ、自殺遺伝子治療との併用の有効性が示唆された。胆嚢癌では少なくとも約 8 割に p16 (Rb 系) の異常、半数に p53 の異常が報告されているが、最近、Rb 系と p53 系の異常はほとんどの癌細胞で認められるとの説も有力視されており、今回用いた Ad は胆嚢癌以外の多くの癌に対しても効果が期待できる。

(結論)

E1A, E1B 二重制限増殖型 Ad は、in vitro, in vivo で胆嚢癌細胞における選択的な増殖と腫瘍融解効果を示す一方、正常細胞に対しては E1B-55kD 単独欠損 Ad に比しより安全であることが示唆され、E1A, E1B 二重変異 Ad による胆嚢癌の腫瘍融解遺伝子治療の実験的有効性が示された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、癌細胞内で特異的に増殖し腫瘍を融解する E1 変異アデノウイルスに着目し、マウスを用いた in vitro および in vivo の実験系で正常細胞ではウイルスの増殖が抑制され細胞障害が軽度であること、一方、胆嚢癌細胞においては野生型ウイルスと同様に増殖し癌細胞を融解壊死させることを初めて明らかにした。これらの研究成果はすでに国際誌に掲載され、世界で高く評価されている。今後、本ウイルスを用いた癌特異的融解療法の臨床応用が期待される。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。