

氏名（本籍） 長谷川直之（千葉県）
学位の種類 博士（医学）
学位記番号 博甲第 6660 号
学位授与年月 平成 25 年 5 月 31 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 人間総合科学研究科
学位論文題目

Cyclophosphamide Enhances Antitumor Efficacy of Oncolytic Adenovirus Expressing Uracil Phosphoribosyltransferase (UPRT) in Immunocompetent Syrian Hamsters

（シクロフォスファミドは、免疫適格シリアンハムスターにおける PRT 発現腫瘍融解アデノウイルスの抗腫瘍効果を増強する）

主査	筑波大学教授	獣医学博士	八神 健一
副査	筑波大学教授	博士（医学）	小田 竜也
副査	筑波大学准教授	医学博士	竹内 薫
副査	筑波大学講師	博士（医学）	阿久津博義

論文の内容の要旨

（目的）

近年、癌の新規治療法として腫瘍選択的に増殖し腫瘍を融解壊死させる「腫瘍融解ウイルス」の遺伝子治療への応用（遺伝子武装腫瘍融解ウイルス）が注目されている。抗癌剤 5-fluorouracil (5-FU) の効果を増強する酵素 uracil phosphoribosyltransferase (UPRT) の遺伝子を搭載した腫瘍融解アデノウイルス (AxE1CAUP) は、E1B 遺伝子の欠損により p53 シグナル異常を有する癌細胞内でのみ選択的に増殖し、UPRT を発現し Ad の感染宿主ではない免疫不全マウスにおいてヒト癌細胞の 5-FU 感受性を増強することが、先行研究により明らかとなった。本研究では、AxE1CAUP の臨床応用と安全性を予測するため、Ad に感染するシリアンハムスターの同種腭癌皮下腫瘍モデルを用いて、AxE1CAUP と 5-FU の併用による「遺伝子化学療法」の有効性と安全性を検討した。さらに、cyclophosphamide (CP) 併用の抗腫瘍効果と安全性についても検討した。

（対象と方法）

In vitro でハムスター腭癌 HaP-T1 細胞における AxE1CAUP の増殖、UPRT 発現、5-FU 感受性の増強を、リアルタイム PCR、Western blot 法、WST-1 assay により検討した。次いで、シリアンハムスターの両側腹部に HaP-T1 細胞を移植した *in vivo* モデルで、片側腫瘍内に AxE1CAUP を注入した後、CP、5-FU を腹腔内投与し、腫瘍径、体重、血清抗 Ad 抗体価を測定し、腫瘍内のウイルスの存在、UPRT 発現を検討した。また、あらかじめ AxE1CAUP の筋肉内投与により免疫したハムスター（Preimm 群）

に AxE1CAUP/5-FU 療法を行い、既存免疫のない群 (Nonimm 群) と比較し、さらに CP の同時投与が、Preimm 群、Nonimm 群における治療効果を増強するか否かを検討した。

(結果)

AxE1CAUP は、*in vitro* で HaP-T1 細胞に感染、増殖し、UPRT を発現し、細胞の 5-FU 感受性を増強した。また、ハムスター HaP-T1 皮下移植腫瘍において、AxE1CAUP/5-FU 併用療法は、PBS 群、AxE1CAUP 群に比し有意に強く腫瘍増殖を抑制した。さらに高容量 CP を追加すると、CP 非追加群に比し有意に強く腫瘍増殖を抑制した。体重減少や肝、肺の組織障害はみられなかった。AxE1CAUP/CP 群では、血清抗 Ad 中和抗体が抑制され、腫瘍内の Ad 増殖や UPRT 発現が増強した。AxE1CAUP 群の対側腫瘍も、PBS 群の対側腫瘍に比し有意に増殖抑制されたが、この全身的抗腫瘍効果は AxE1CAUP/CP 併用群ではみられなかった。臨床容量の中等量 CP の併用でも AxE1CAUP/5-FU の抗腫瘍効果は有意 ($P<0.05$) に増強した。AxE1CAUP/5-FU の抗腫瘍効果は、Preimm 群では Nonimm 群に比し有意に減弱したが、臨床容量の CP を併用したところ、Preimm 群でも抗 Ad 抗体産生が抑制され、抗腫瘍効果も CP 非投与群に比し有意に増強した。

(考察)

本研究では、UPRT 発現アデノウイルス (AxE1CAUP) と 5-FU の遺伝子化学療法の有効性および安全性をシリアンハムスターの同種腺癌皮下腫瘍モデルにおいて示した。また、高容量 CP 併用により、抗アデノウイルス抗体が抑制され、腫瘍内のウイルス増殖や UPRT 発現が亢進し 5-FU 投与時の抗腫瘍効果がさらに増強した。さらに臨床容量の中等量 CP の併用でも治療前の既存免疫の有無にかかわらず抗腫瘍効果が増強した。AxE1CAUP 非注入側の腫瘍も軽度な増殖抑制を示したが、この効果は高容量 CP 併用により消失した。AxE1CAUP による抗腫瘍免疫の賦活と高容量 CP によるその消失が示唆された。このことは、抗ウイルス免疫と抗腫瘍免疫のジレンマを示唆する。

審査の結果の要旨

(批評)

本研究は、抗癌剤 5-FU の効果を増強する酵素である UPRT の遺伝子を搭載した腫瘍融解アデノウイルス AxE1CAUP の臨床応用と安全性を予測するため、アデノウイルスに感染するシリアンハムスターの同種腺癌皮下腫瘍モデルを用いて、AxE1CAUP と 5-FU の併用による「遺伝子化学療法」の有効性と安全性を明らかにしたものである。臨床応用に向けて、抗ウイルス免疫と抗腫瘍免疫のジレンマの解消などの課題は残るが、独創的な遺伝子治療用の腫瘍融解ウイルスの評価は着実に進展しており、今後の成果が期待できる。

平成 25 年 4 月 1 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

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