

[別紙 2]

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 水口 剛雄

癌抑制遺伝子 *PTEN* は、卵巣癌において高頻度に活性化されているとされる PI3 キナーゼを介す細胞増殖のシグナル伝達経路に対して抑制的に働くと考えられている。従って、*PTEN* 遺伝子導入による過剰発現は、有効な卵巣癌治療となる可能性がある。本研究はその可能性を検証するため、正常の *PTEN* 遺伝子を発現するアデノウイルス・ベクター AdCAPTEN を作製し、その卵巣癌細胞に対する作用を調べたものであり、下記の結果を得ている。

1. 正常の *PTEN* 遺伝子を持つ 9 つのヒト卵巣癌細胞株 (MDAH 2774、TYK-nu、SW 626、NIH:OVCAR-3、OV-1063、SK-OV-3、Caov-3、ES-2、MCAS) に AdCAPTEN およびコントロール・ウイルス AdCA を感染させたところ、*PTEN* 遺伝子の導入はベクターのみの感染と比較して、9 株のうち 6 つ (MDAH 2774、TYK-nu、SW 626、NIH:OVCAR-3、OV-1063、SK-OV-3) の増殖を有意に抑制することが示された。
2. その増殖抑制の度合は、各細胞株での内因性 *PTEN* および *PIK3CA* 遺伝子の発現レベルとは関係せず、AdCALacZ の感染により行った  $\beta$ -ガラクトシダーゼ・アッセイにおける各細胞株の遺伝子導入効率と相関した。
3. 更に、この増殖抑制作用の分子機構を解明するためフローサイトメトリーおよび TUNEL 染色を施行したところ、観察された増殖抑制作用はアポトーシスおよび G1 アレストを介しており、また高い遺伝子導入効率はアポ

トーシスの誘導と相関していることが示された。

4. アデノウイルスによる遺伝子導入には、細胞でのアデノウイルス受容体すなわち HCAR (ヒト・コクサッキー・アデノウイルス受容体)、インテグリン $\alpha v$ 、 $\beta 3$  および $\beta 5$  の発現が必要と考えられており、これらアデノウイルス受容体の各卵巣癌細胞株での発現レベルを RT-PCR 法により調べたところ、インテグリン $\alpha v$  の発現レベルと遺伝子導入効率 ( $P=0.014$ )、および増殖抑制の度合 ( $P=0.009$ ) とが有意に相関することが示された。

以上、本論文はアデノウイルス・ベクターを用いた *PTEN* 遺伝子の導入は、アポトーシスおよび G1 アレストを介して卵巣癌細胞の増殖を有意に抑制し、その効果は卵巣癌細胞におけるインテグリン $\alpha v$  の発現量と相関することを明らかにした。本研究はアデノウイルス・ベクターを用いた *PTEN* 遺伝子導入による卵巣癌治療について重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。