

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 内田 宏昭

本研究は大腸癌の遺伝子治療に関する基礎的研究として、アポトーシス関連分子 caspase-8 の遺伝子導入と 5-fluorouracil 処理あるいはX線照射の併用効果を検討し、アポトーシス誘導効果の増強とその機序について解析を行ったものであり、下記の結果を得ている。

1. 大腸癌細胞DLD-1に対してcaspase-8発現アデノウイルスベクターの感染と5-fluorouracil処理を行ったところ、それぞれ単独ではほとんどアポトーシスを生じない条件で、併用処理により強いアポトーシスを誘導した。この併用効果の主なメカニズムは、5-fluorouracilの細胞増殖抑制効果によりアデノウイルスベクターによる1細胞あたりの遺伝子導入発現量が増強された結果、caspase-8の強い活性化が生じたためであると考えられた。
2. 大腸癌細胞DLD-1に対してcaspase-8発現アデノウイルスベクターの感染にX線照射を併用したところ、線量依存的に強いcaspase-8の活性化およびアポトーシスを誘導した。この併用効果の主なメカニズムは、比較的少量ながらも過剰発現されたprocaspase-8が、X線照射による刺激を受けたミトコンドリアの下流で効率よく活性化されたためであると考えられた。

以上、本論文は5-fluorouracilやX線照射に抵抗性を示す難治性大腸癌に対する新しい治療法の可能性を提示するとともに、既存の治療法を併用すること

により十分な抗腫瘍効果を得るための遺伝子治療用ベクターの使用量を削減することを可能とし、治療の安全性を高めうる方法論を提示したことから、学位の授与に値すると考えられる。

尚、審査会時点から、論文の内容中、以下の点が改訂された。

1. 検討に用いた大腸癌細胞 DLD-1 を選択した理由が、頻用される大腸癌細胞株の中で特に 5-fluorouracil 処理および X 線照射に対する抵抗性が高いためであることを「研究の背景および目的」の部分に明示した。
2. caspase-8 遺伝子導入と併用する治療法として 5-fluorouracil と X 線を選択した理由が、大腸癌補助療法として一般的であるためであることを「研究の背景および目的」の部分に明示した。
3. フローサイトメトリーによる DNA 断片化の検出における陽性細胞の定義を「方法」の部分に明示した。
4. 検討に用いた遺伝子導入発現系は腫瘍細胞に対する特異的標的化がなされていないため、正常細胞にもアポトーシス促進性遺伝子が導入されてしまうと考えられる点、およびこの問題を克服するためにどのような研究が必要であると考えられるか、に関して「考察」の部分で議論した。