

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 酒 向 晃 弘

本研究は、腹膜播種治療において、血管新生因子の1つ VEGF に着目し、腹膜中皮細胞の役割と、それを標的とした新たな遺伝子治療の可能性について検討したものであり、下記の結果を得ている。

1. ヒト大網より我々が分離培養した細胞は、フローサイトメトリー解析では、細胞集団が均一であり、cytokeratin、calretinin 陽性で、von Willebrand factor 陰性であり他の細胞の混入が極めて少なく、形態学的にも敷石状を呈しており腹膜中皮細胞であることが示された。

2. ヒト胃癌細胞株 8 種、ヒト大腸癌細胞株 4 種、ヒト卵巣癌細胞株 2 種、ヒト膵臓癌細胞株 2 種との、ELISA による VEGF 分泌量の比較では、培養腹膜中皮細胞は癌細胞と同等の VEGF 分泌量を持つ事が示された。

3. 培養腹膜中皮細胞に FGF-2 を添加することにより、ELISA、Northern blotting 解析で、VEGF 発現量が増加することが示された。

4. 培養腹膜中皮細胞が発現する VEGF の isoform は RT-PCR 解析から、VEGF₁₂₁、VEGF₁₆₅ が主に発現しており、VEGF₁₈₉ はわずかに発現するのみ、VEGF₂₀₆ は全く発現していない事が示された。

5. ヒト胃癌細胞株を用いた腹膜播種モデルから得られた悪性腹水中の宿主由来 VEGF と癌由来 VEGF を ELISA 解析した検討から、癌細胞接種 3 週後の悪性腹水中に、宿主由来の VEGF は 12.8%存在し、6 週間後の悪性腹水中には 5.0%存在する事が示された。したがって、宿主由来の VEGF は播種成立の初期においてより高いと考えられた。

6. β -galactosidase 発現非増殖型アデノウイルス (以下 Ad-LacZ) を用いた、in vitro での X-gal 染色による感染効率の検討では、腹膜中皮細胞は胃癌細胞株 2 種に比べ、10

[別紙2]

倍以上も感染効率がよい事が示された。また、マウス腹腔内に単回投与された Ad-LacZ は、X-gal 染色により、iv vivo で少なくとも 4 週間にわたり発現している事が示された。

7. s-Flt1 発現アデノウイルス (以下 Ad-sFlt-1) をマウス腹腔内に単回投与した検討では、ELISA により、少なくとも 8 週間、洗浄腹水中に sFlt-1 が存在する事が示された。したがって、アデノウイルスベクターを用いた腹膜中皮細胞への遺伝子導入は、手技的にも容易で、また、標的となる細胞の細胞周期が正常なため、長期発現が期待できると考えられた。

8. Ad- s Flt1、Ad-LacZ、PBS を腹腔内に単回投与した 3 日後に、癌細胞を腹腔内接種するモデルにおいて、腹膜播種の総数では有意差が無かったものの、sFlt-1 群は、有意に 1mm 以上の腹膜播種形成を抑制し、その予後を延長させることが示された。腫瘍は 1-2mm 以上に発育する際に、血管新生が必要となってくると考えられており、今回の結果は、腹膜中皮細胞を標的とした抗血管新生療法として十分に効果があったと考えられた。

以上、本論分は、マウス腹膜播種モデルを用いて、宿主である腹膜が、遺伝子治療の標的と成りうる事を示した。本研究は、腹膜という「土壌」を遺伝子改変することで、そこに蒔かれた「種 (癌細胞)」を効率的に制御するというこれまでに無かった新しい癌治療戦略の有効性を示唆したものであり、学位の授与に値するものと考えられる。