

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 金谷 倫子

p53 遺伝子は、そのコードするタンパクが転写因子として働くことにより細胞周期の停止およびアポトーシスを誘導することから、代表的な癌抑制遺伝子として知られている。*P53* のこの作用を利用し、アデノウイルスベクターを用いて野生型 *p53* 遺伝子を腫瘍細胞に導入する遺伝子治療が考案されて以来、その臨床応用が期待されている。本研究の目的は、既存の治療による有効性が乏しい犬の悪性腫瘍に対する *p53* 遺伝子治療の開発である。

第1章では犬の骨肉腫および悪性黒色腫由来細胞株におけるアデノウイルスベクターによる *p53* 遺伝子導入の細胞増殖抑制効果を検討した。犬骨肉腫由来細胞株であるPOSおよびHOSにおいては *p53* 遺伝子の変異と *P53* の機能喪失が認められた。他の骨肉腫細胞株および悪性黒色腫由来の5つの細胞株においては *p53* 遺伝子の変異や *P53* の機能喪失は認められなかった。これら細胞株にイヌ野生型 *P53* を発現するアデノウイルスベクター (AxCA-cp53) を感染させ、細胞増殖率を測定した。その結果、すべての細胞株において、AxCA-cp53 を感染させた細胞では、対照であるLacZ発現アデノウイルスベクター (AxCA-LacZ) を感染させた細胞と比較して、有意な細胞増殖抑制効果が認められた。またアデノウイルスベクターによって導入された *P53* タンパクの発現増強が確認され、*P21^{WAF1}* の発現誘導も認められた。さらにAxCA-cp53 感染細胞ではアポトーシス細胞の増加が認められた。

第2章では、犬の骨肉腫細胞 (POS, HOS) をヌードマウスマウスに移植して形成させた移植腫瘍において *p53* 遺伝子導入による抗腫瘍効果を検討した。その結果、AxCA-cp53 投与群では、AxCA-LacZまたはPBS投与群と比較して、腫瘍の成長が有意に抑制された。AxCA-cp53 を注射した腫瘍では、導入された *p53* 遺伝子mRNAの発現が確認され、また *P53* によって誘導された *p21^{WAF1}* mRNAの発現も検出された。AxCA-cp53 を注射した腫瘍組織においては、AxCA-LacZおよびPBSを注射した腫瘍組織と比較して、より多くのアポトーシスの指標であるTUNEL陽性細胞が観察された。

第3章においては外科的切除が不可能であり、放射線療法や化学療法に対する反応性が低い腫瘍症例9例に対し*p53* 遺伝子治療を行った。病理組織学的診断は、肺癌（1頭）、線維肉腫（2頭）、扁平上皮癌（1頭）、悪性黒色腫（2頭）、血管周囲腫（1頭）、骨肉腫（1頭）および移行上皮癌（1頭）であった。この9頭中、1頭に腫瘍細胞の*p53* 遺伝子変異が認められ、他の1頭にP53 タンパクの過剰発現が認められた。2週間に1回、AxCA-cp53（ $1 \sim 5 \times 10^{10}$ PFU/dog）を腫瘍内に局所注射し、それを1サイクルとし、可能な症例ではサイクルを繰り返した。投与2週間後、AxCA-cp53 投与に対する反応性は、9頭中8頭でStable disease（SD）、1頭でProgressive disease（PD）であった。2サイクル目の治療が可能であった4頭の反応性は、1頭でPartial response（PR）、1頭でSD、2頭でPDであった。2サイクル目の治療でPRが認められた骨肉腫症例では、治療により腫瘍体積が50%以上縮小し、臨床症状の著しい改善が認められた。遺伝子治療を受けた9頭において認められた副作用としては、食欲不振（2頭）、発熱（2頭）、嘔吐（1頭）、ALP上昇（5頭）であったが、いずれも軽度であった。AxCA-cp53 を投与した9頭中7頭において、投与部位組織にアデノウイルスベクター由来*p53* mRNAの発現が確認された。

以上要するに本研究は犬の*p53* 遺伝子治療の可能性を細胞レベルならびにヌードマウスモデルで確認し、さらに臨床例にまで応用したものであり、臨床上その貢献は少なくない。よって審査委員一同はこの論文が博士（獣医学）として価値あるものと認めた。