

論文の内容の要旨

論文題目：免疫刺激遺伝子発現型単純ヘルペスウイルスの脳腫瘍に対する治療効果の検討と新たなウイルスベクターの開発

指導教員：齊藤 延人 教授

東京大学大学院 医学系研究科

平成 15 年 4 月入学

医学博士課程

脳神経医学専攻

宮本 伸哉

目的：増殖型単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) ベクターを用いた腫瘍に対するウイルス療法の治療効果は、ウイルス複製と抗腫瘍免疫誘導の双方に依存する。本研究では、マウスインターロイキン 12 (IL-12) を発現する第 3 世代 HSV-1 ベクター (T-mfIL12) を使用し、免疫刺激遺伝子の発現が、ウイルス療法の抗腫瘍効果を増強するか否かを検討した。また、IL-12 と IL-18 の相乗的抗腫瘍効果が知られていることから、IL-18 の全身投与の併用が T-mfIL12 の抗腫瘍効果を増強するか否かを検討した。更に IL-12 と IL-18 を共に発現する第 3 世代 HSV-1 ベクター (T-mfIL12·IL18) を作製した。

方法： *In vitro*におけるコントロールウイルス T-01 と T-mfIL12 の殺細胞効果の比較には、マウス神経芽細胞腫 Neuro2a を使用した。*In vivo*における T-mfIL12 の抗腫瘍効果は、A/J マウスを用い、免疫原性の低い同系の Neuro2a の皮下腫瘍および脳腫瘍モデルを用いて評価した。新たなウイルスベクター作製には、bacterial artificial chromosome (BAC) と 2 種の recombinase 系を利用した「武装」増殖型 HSV-1 ベクター作製システムを用いた。

結果： *In vitro* で T-01 と T-mfIL12 の殺細胞効果に有意差を認めなかった。A/J マウスの両側皮下腫瘍モデルを用い左側腫瘍のみに腫瘍内投与を行ったところ、T-mfIL12 は T-01 に比べて治療側において有意に優れた抗腫瘍効果を示し、非治療側においても優れた抗腫瘍効果の傾向を示したことから、IL-12 の局所発現が増殖型 HSV-1 の治療効果を増強することが示された。ヌードマウスに両側 Neuro2a 皮下腫瘍を作り同様の治療実験を行ったところ、非治療側において T-mfIL12 による抗腫瘍効果の増強が消失した。A/J マウス両側皮下腫瘍の左側のみにウイルスを腫瘍内投与したのち、経時的に腫瘍を採取し、X-gal 染色によるウイルス複製と real time PCR を用いたウイルス量の評価を行ったところ、治療側では、day 9 においてもウイルスの存在を認めたが、非治療側では、ウイルスの存在を全く認めなかった。皮下腫瘍における *in vivo* のウイルス複製能を定量したところ、回収された感染性ウイルス量は、T-01 と T-mfIL12 で有意差を認めなかった。T-mfIL12 を投与した皮下腫瘍を投与 1, 3, 5 日後に回収し IL-12

とインターフェロン γ (IFN- γ) を測定したところ、腫瘍内の IL-12 の発現量は day 1 で最大値を示し、その後経時的に減少したのに対して、腫瘍内 IFN- γ の含有量は、経時的に上昇し、day 5 で最大値を示した。T-mfIL12 腫瘍内投与と IL-18 全身投与の併用は、両側皮下腫瘍モデルにおいて、T-mfIL12 単独投与に比べて治療側では優れた抗腫瘍効果の傾向を認め、非治療側では有意な抗腫瘍効果の増強を認めた。脳腫瘍モデルにおいては、T-01 または T-mfIL12 の腫瘍内投与は、共に Mock と比べ有意な延命効果を示したが、2つのウイルス間では有意差を認めなかった。また、IL-18 の全身投与併用による抗腫瘍効果の増強も認めなかった。IL-12 と IL-18 を同時に発現する第3世代 HSV-1 ベクター、T-mfIL12・mIL18 の作製に成功した。

結論：免疫刺激遺伝子 IL-12 で「武装」し、腫瘍内で IL-12 を発現することにより、増殖型遺伝子組換え HSV-1 の抗腫瘍効果が増強されることが示された。

T-mfIL12 腫瘍内投与に伴う遠隔腫瘍に対する抗腫瘍効果の増強は、ウイルスの遠隔感染によるものではなく、全身性抗腫瘍免疫を介し T 細胞を要することが示唆された。単独では抗腫瘍効果を呈さないような低用量の IL-18 の全身投与の併用が、T-mfIL12 の抗腫瘍効果を一層増強することが示された。