

審査の結果の要旨

氏名 宮本 伸哉

本研究は、増殖型単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) ベクターを用いたウイルス療法の抗腫瘍効果に重要と考えられる抗腫瘍免疫が、免疫刺激遺伝子の発現により増強されるか否か、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明らかにするため、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)、マウスインターロイキン 18 を用いて、A/J マウス、ヌードマウスのマウス神経芽細胞 (Neuro2a) 腫瘍モデルにおいて抗腫瘍効果の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. *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。
2. 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。
3. 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。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。

4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 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。
8. 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。

以上、本論文は、免疫刺激遺伝子 IL-12 の発現が増殖型遺伝子組換え HSV-1 の抗腫瘍効果を増強することを示し、さらに低用量の 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を明らかにした。本研究は、悪性脳腫瘍に対してより抗腫瘍効果の高いウイルス療法の開発の方向性を示唆する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。