

審査の結果の要旨

氏名 竹島 雄太

本研究は遺伝子改変型 HSV-1 の前立腺癌治療への応用にあたり、組織特異的プロモータで ICP6 遺伝子の発現を制御し、各種前立腺癌細胞株および動物モデルに対する抗腫瘍効果への影響を解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 異なる増殖速度の癌細胞株における ICP6 欠失 HSV-1(G47Δ)と ICP6 未欠失 HSV-1(R47Δ)の複製能の比較を行った結果、増殖が遅いと考えられる細胞株では ICP6 欠失により HSV-1 複製能の低下が認められた。
2. 第3世代遺伝子改変型 HSV-1 である G47Δ を backbone とし、2種類の前立腺癌特異的プロモータ(osteocalcin promoter および PSES enhancer)の制御下に置いた ICP6 配列を組み込んだ2種の新規遺伝子改変型 HSV-1(T-OC および T-PSES)を作製した。
3. 新規ウイルス T-OC・T-PSES を用いヒト前立腺癌細胞株 DU145 における複製試験を行った。T-OC・T-PSES は ICP6 を欠失したコントロールウイルス T-01・T-pro と比較し DU145 において有意に高い複製能を示した。
4. 新規ウイルス T-OC・T-PSES および各種コントロールウイルスの ICP6 発現を Western Blotting で解析した。ヒト前立腺癌細胞 DU145・LNCaP・PC-3 において T-OC・T-PSES はともに positive control の ICP6 未欠失 HSV-1(R47Δ)と同等の ICP6 発現を認めた。一方 negative control の ICP6 欠失 HSV-1(G47Δ・T-01)では ICP6 の機能を喪失した複合蛋白が発現し、ICP6 のプロモータを欠失した T-pro はごく微量の ICP6 発現を認めた。また、ヒトグリオーマ細胞株 U87MG においては T-OC・T-PSES は ICP6 発現を認めなかった。以上より、T-OC・T-PSES は前立腺癌特異的プロモータにより ICP6 を制御することにより前立腺癌細胞に限定された ICP6 機能を再獲得したと考えられた。
5. ヒト前立腺癌細胞 DU145・LNCaP・PC-3 を使用し、*in vitro* の殺細胞効果試験を行った。DU145・LNCaP に対し T-OC・T-PSES ともにコントロールウイルス T-pro と比較し有意に高い殺細胞効果を示した。PC-3 に対し T-OC はコントロールウイルス T-pro と比較し有意に高い殺細胞効果を示した。

6. BALB/c nu/nu マウスに DU145・LNCaP・U87MG の皮下腫瘍モデルを作製し、*in vivo* での T-OC・T-PSES の抗腫瘍効果試験を行った。DU145 モデルでは T-OC・T-PSES とともにコントロールウイルス T-01 と比較し有意に高い抗腫瘍効果を呈した。T-OC・T-PSES の抗腫瘍効果に有意差は認めなかった。LNCaP モデルでは T-PSES はコントロールウイルス T-01 と比較し有意に高い抗腫瘍効果を呈した。U87MG モデルでは T-OC・T-PSES とともにコントロールウイルス T-01 と抗腫瘍効果の差は認められなかった。よって、T-OC・T-PSES はヒト前立腺癌細胞の動物モデルに対し従来のウイルスと比較し抗腫瘍効果の増強を認めるものの、(増殖速度の速い) 非前立腺癌モデルに対しては抗腫瘍効果に変化はないと考えられた。

以上、本論文では組織特異的プロモータを利用した ICP6 遺伝子の制御により、遺伝子改変型 HSV-1 に前立腺癌特異的な ICP6 発現を再獲得させることに成功し、ヒト前立腺癌細胞に対する複製能・殺細胞効果・抗腫瘍効果の増強が得られた。本研究同様の組織特異的な ICP6 発現制御は様々な癌種に対する遺伝子改変型 HSV-1 の治療効果増強につながると同時に、遺伝子改変型 HSV-1 の臨床応用において有効な新戦略を担うと期待され、学位の授与に値するものと考えられる。