

審査の結果の要旨

氏名 立野 陽子

本研究は難治癌の一つである胆道癌に対する新規治療法の開発を目的に、がん治療用 HSV-1 である G47Δ を用いてウイルス療法の有用性を検討したものである。一般にがん治療用 HSV-1 は腫瘍内投与されているが、直接穿刺を要しない投与方法も胆道癌への臨床応用に際して有用であることから新規投与経路の開発も試みている。また G47Δ の治療効果を高めるため、免疫を賦活する因子 x を発現する G47Δ (T-x) を作製してその効果を検討し、下記の結果を得ている。

1. *In vitro* において以下 5 種のヒト胆道癌細胞株（肝内胆管癌細胞株 HuCCT1、胆管癌細胞株 OZ、胆嚢癌細胞株 NOZ、TGBC2TKB、TYGBK-1）に対する G47Δ の感染性、ウイルス複製能と、用量依存的な殺細胞効果を示した。*In vivo* ではヌードマウスに作成した HuCCT1 および NOZ 皮下腫瘍に対して G47Δ の腫瘍内投与を行い、用量依存的な腫瘍増殖抑制効果を示した。
2. 新規投与経路として胆道内投与、肝実質内腫瘍近傍投与、腹腔内投与について各々モデルを作成して検討した結果 G47Δ の腹腔内投与にて腹膜播種病巣モデルの有意な生存延長を認めており、腹腔内投与は有望な新規投与方法であると示唆された。
3. 新規機能付加型 HSV-1 の開発では、免疫を賦活する承認薬 x のアミノ酸配列情報をもとに x をコードする cDNA 配列を設計し、この cDNA を T-BAC システムを用いて G47Δ の ICP6 遺伝子欠失部位に挿入して T-x を作製した。
4. T-x 感染細胞上清を用いた ELISA および Western Blotting の結果、T-x の発現するタンパク x' は x とほぼ同様の構造であることが示された。
5. T-x は Vero、マウス神経芽細胞種細胞株 Neuro2a、マウス大腸癌細胞株 CT26 に対し、*in vitro* においてコントロールウイルスである T-01 とほぼ同等の感染性、複製能、殺細胞性を示し、複製能に関連した x' の発現も確認された。免疫正常マウスに作成した Neuro2a 皮下腫瘍を用いた *in vivo* replication assay では、T-x 群 T-01 群ともにウイルス投与 7 日後まで感染性ウイルスが同等に検出され、x' の発現に伴うウイルス力価への影響は認められなかった。
6. 治療局所と遠隔病巣に対する T-x の効果を、免疫正常マウスに作成した同系両側皮下腫瘍モデルを用いて T-01 と比較した。ウイルス投与側は T-01、T-x とともに Mock 群と比較して有意に腫瘍増大を抑制したが、T-01、T-x の効果は同等であった。非治療側では、

T-x 投与群は T-01 投与群と比較し抑制的な傾向が見られたものの統計学的有意差はなく、x'発現に伴う上乗せ効果は認められなかった。

以上、本論文は胆道癌に対する G47Δ の有効性を示し、更に腹腔内投与が G47Δ の新しい投与経路となり得ることを明らかにした。病変の穿刺を必要としない腹腔内投与法は位置を特定し難い病変の治療を可能とするものであり、臨床応用に向けて重要な貢献をなすと考えられる。また免疫を賦活する因子 x を発現する機能付加型 G47Δ の作製とその腫瘍抑制効果に関する検討は、局所的な免疫調節因子の発現がウイルス療法および抗腫瘍免疫に対して与える影響に関して今後の理解を深める可能性があると考えられ、学位の授与に値すると判断した。