

## 論文内容の要旨

### 腫瘍溶解性ヘルペスウイルスとシクロホスファミドを併用した子宮頸がん新規治療法の検討

(川村英生, 利部正裕, 佐々木裕, 村上一行, 川村花恵, 池田浩, 阿保亜紀子, 吉野直人, 村木靖, 杉山徹)

(岩手医学雑誌 69 巻, 2 号 平成 29 年 6 月掲載予定)

#### I. 研究目的

進行及び再発子宮頸がんは手術適応がなく標準療法の効果は十分ではない。我々は腫瘍溶解性ヘルペスウイルス (T-01) を用いた新規治療法の開発に取り組み, 子宮頸がんモデルマウス (以下モデルマウス) を用いた研究でその抗腫瘍効果を確認している。しかし, 一定程度以上に増大した腫瘍に対して T-01 の十分な抗腫瘍効果は得られなかった。我々は免疫抑制作用のあるシクロホスファミド (CPA) と T-01 を併用することで T-01 に対する抗ウイルス免疫を低下させ, それにより T-01 の増殖が促されることで抗腫瘍効果の改善が得られると予測した。本研究では, 子宮頸がんに適応のある抗がん剤であり免疫抑制作用のある CPA を T-01 と併用することによって抗腫瘍効果の改善が得られるか検討を行った。

#### II. 研究対象ならび方法

C57BL/6NJc1 マウスに, ヒトパピローマウイルスの腫瘍抗原 E6/E7 を発現する株化細胞 TC-1 を皮下移入し, 子宮頸がんモデルマウスを作製した。人道的エンドポイントは, 腫瘍体積が  $1,500\text{mm}^3$  を超えた場合に設定した。CPA 投与スケジュール策定のため, モデルマウスに対し TC-1 細胞移入直前および移入から 7 日間隔で 28 日まで採血し, 血中ヘモグロビン (Hb) 値を測定した。モデルマウスを 4 つの治療群 (無治療対照群, T-01 単独群, CPA 単独群, CPA+T-01 群) に分け, TC-1 細胞移入後 28 日まで経時的に腫瘍径と体重を測定し, 各群の抗腫瘍効果を比較した。TC-1 細胞移入後 18 日における無治療対照群と CPA 単独群のマウス脾臓中総リンパを計測した。リンパ球サブセットはフローサイトメーターを用い解析した。TC-1 細胞移入後 18 日における無治療対照群と CPA 単独群のマウス脾臓中リンパ球を用いてリンパ球幼若化試験を行い免疫状態の解析を行った。TC-1 細胞移入後 18 日における T-01 単独群と CPA+T-01 群の腫瘍組織から T-01 を抽出しプラークアッセイ法を用い感染性 T-01 のウイルス力価を解析した。

### III. 研究結果

1. TC-1 細胞移入直前に対し、移入後 21 日以降は Hb 値が有意に低下し観察期間中に Hb 値が回復することはなかった。貧血状態にあるマウスへの CPA 投与は貧血を増悪させる可能性があるため CPA の投与は TC-1 細胞移入後 14 日までとして治療スケジュールを策定した。
2. 無治療対照群と各治療群を比較したところ、いずれの治療群でも有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。観察期間終了の 28 日における治療群の腫瘍体積を比較すると T-01 単独群、CPA 単独群に対し CPA+T-01 群は有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。生存率においては有意差を認めていないが、CPA+T-01 群のみ観察期間終了まで死亡する個体を認めず生存期間が延長する傾向にあった。
3. 無治療対照群と CPA 単独群の脾臓中の総リンパ球数を比較すると CPA 単独群は無治療対照群に対し総リンパ球数が有意差に減少していた。リンパ球に占める CD3 陽性 T 細胞と CD4 陽性 T 細胞の割合は無治療対照群に対し CPA 単独群で高い割合を占めていた。
4. マイトジェン刺激に対する反応性は無治療対照群に対し CPA 単独群で有意に低かった。これらの結果から、子宮頸がんモデルマウスの免疫能は CPA により低下することが明らかになった。
5. 感染性 T-01 が検出された個体数を比較すると T-01 単独群に対し CPA+T-01 群は有意に多かった。ウイルス感染力価で比較しても、T-01 単独群に対し CPA+T-01 群では約 44 倍のウイルス感染力価を示した。このことから、CPA により免疫能の低下したモデルマウスでは有意に T-01 が増殖していることが明らかになった。

### IV. 結 語

併用療法は T-01 単独および CPA 単独療法に比べ有意な腫瘍増殖抑制効果を認め、生存期間も延長する傾向にあった。T-01 と CPA との併用でより強い腫瘍増殖抑制効果が得られた機序を検討するため、モデルマウスの免疫能および腫瘍組織中のウイルス力価を解析した。CPA を投与したマウス脾臓中の総リンパ球数は減少し、かつマイトジェンに対するリンパ球の反応性も低下していた。このことから CPA 投与により免疫能は低下することが明らかになった。実際、モデルマウス腫瘍組織中のウイルス力価は T-01 単独療法に比べ併用療法で約 44 倍と有意に増加していた。併用療法では T-01 および CPA それぞれの抗腫瘍効果に加え、CPA による抗 T-01 特異的免疫の抑制により T-01 の増殖が促され相乗効果を誘導したと考えられた。

本研究では CPA を併用することにより腫瘍溶解性ウイルス療法の治療効果を改善できることが示され、将来の臨床応用が期待できると推察した。

## 論文審査の結果の要旨

### 論文審査担当者

主査 教授 小原 航 (泌尿器科学講座)

副査 教授 板持 広明 (産婦人科学講座)

副査 特任教授 熊谷 仁 (産婦人科学講座)

進行及び再発子宮頸がんは手術適応がなく標準療法の効果は十分ではない。本研究論文は子宮頸がんに適応のある抗がん剤かつ免疫抑制作用のある CPA を T-01 と併用することによって抗腫瘍効果の改善が得られるかの検討を行い、その作用機序についても明らかにした論文である。T-01 単独群, CPA 単独群に対し CPA+T-01 群は有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。無治療対照群と CPA 単独群の脾臓中の総リンパ球数を比較すると CPA 単独群は無治療対照群に対し総リンパ球数が有意差に減少していた。マイトジェン刺激に対する反応性は無治療対照群に対し CPA 単独群で有意に低かった。これらの結果から、子宮頸がんモデルマウスの免疫能は CPA により低下することが明らかになった。ウイルス感染力価で比較しても、T-01 単独群に対し CPA+T-01 群では約 44 倍のウイルス感染力価を示した。このことから、CPA により免疫能の低下したモデルマウスでは有意に T-01 が増殖していることが明らかになった。

本研究では CPA を併用することにより腫瘍溶解性ウイルス療法の治療効果を改善できることが示され、将来の臨床応用が期待できる研究である。学位に値する論文である。

### 試験・試問の結果の要旨

ウイルスの特徴、投与における安全性、臨床応用に向けた課題等について試問を行い、適切な解答を得た。学位に値する学識を有していると考えられる。また、学位論文の作成にあたって、剽窃・盗作等の研究不正は無いことを確認した。

### 参考論文

- 1) トレハロース誘導体の粘膜アジュバント活性：経鼻免疫を行ったマウスでの液性免疫増強効果の検討 (川村花恵, 他 7 名と共著)  
岩手医誌 69 巻, 2 号 (2016)
- 2) 腫瘍溶解性ウイルスと免疫チェックポイント阻害剤を併用した子宮頸がんに対する新規治療法の検討 (村上一行, 他 7 名と共著)  
岩手医誌 68 巻, 3 号 (2016)