

論文内容の要旨

婦人科がんに対する新規腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス治療の検証
(三浦雄吉、利部正裕、斉藤達憲、竹下亮輔、松川直美、阿保亜紀子、吉野直人、杉山徹)
(岩手医学会誌 65 巻, 5 号 平成 25 年 12 月掲載 (予定))

I. 研究目的

子宮頸がんは世界の女性の癌で 2 番目に多く、年間約 500,000 人の発症が報告されている。子宮頸がんに対する治療は手術療法が中心である。進行子宮頸がんに対しては放射線療法や化学療法が標準的であるがその効果は十分とは言えない。また、卵巣がんは年間約 220,000 人の発症が報告され、初回診断の時点で約 60%が進行癌である。このような現状より、これらの婦人科がんに対する新規治療法の開発が急務となっている。我々は、腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス (腫瘍溶解性 HSV) を用いた治療法に注目し研究を進めてきた。腫瘍溶解性 HSV 療法とは、分子生物学的手法を用い弱毒化した単純ヘルペスウイルス 1 型が腫瘍内だけで増殖し細胞を死に至らしめる療法である。今回、第 3 世代腫瘍溶解性 HSV の T-01 を使用し、婦人科がんの臨床応用を目指し、ヒト婦人科癌細胞株に対する殺細胞効果とマウスモデルでの有効性について検討を行った。

II. 研究対象ならびに方法

In vitro でヒト子宮頸癌由来細胞株 3 種 (HeLa, CaSki, SKG-IIIa)、ヒト卵巣癌由来細胞株 4 種 (CAOV3, OVCAR3, SKOV3, KOC-7S) を用い、それぞれの細胞株を培養し増殖能を比較した。次いで、各細胞株に T-01 を感染させ、感染後 48 時間の生細胞率を control 群と比較した。In vivo で雌の C.B-17/lcr-scid/scidJcl (SCID) マウスと NOD/ShiJic-scid Jcl (NOD-SCID) マウスを用いた。卵巣がんモデルは SKOV3、子宮頸がんモデルは HeLa を選択した。SKOV3 は 1×10^5 cell/100 μ l で SCID マウスおよび NOD-SCID マウスに、HeLa は 1×10^6 cell/100 μ l で NOD-SCID マウスにそれぞれ背部皮下接種した。細胞接種後は数日間隔で腫瘍体積、体重を測定し、腫瘍径が 5mm に達してから 4 - 5 日間隔で治療群には T-01 を 1×10^5 pfu/50 μ l、Control 群には PBS を 50 μ l で腫瘍内に計 6 回投与した。腫瘍体積は、(腫瘍体積) = (腫瘍の長径) \times (腫瘍の短径)² \div 2 にて算出した。腫瘍組織は Hematoxylin-Eosin 染色を行い、婦人科がんの治療による組織学的判定基準(案)を用いて効果判定を行った。

III. 研究結果

- 1) ヒト卵巣癌由来細胞株では有意差なく増殖した。
2) ヒト子宮頸癌由来細胞株では HeLa, CaSki は有意差なく増殖したが、SKG-IIIa は 96 時間後で細胞増殖が低かった。
2. T-01 を multiplicity of infection (MOI) 10 で感染させた 48 時間後の生存細胞率は CAOV3 で 53%、OVCAR3 で 64%、SKOV3 で 64%、KOC-7S で 50%、HeLa で 46%、CaSki で 40%、

- SKG-IIIa で 58%であった。また、T-01 の添加量増加とともに生存細胞率の低下を認めた。
3. 1) 卵巣がんモデルの SCID マウスでは接種 35 日目から Control 群と治療群に腫瘍体積の有意差を認め、NOD-SCID マウスは接種 24 日目から Control 群と治療群に腫瘍体積の有意差を認めた。SCID マウス、NOD-SCID マウス共に平均 90%以上の腫瘍縮小を認めた。
 - 2) 子宮頸がんモデルでは腫瘍体積に有意差は認めなかったが、治療群で約 66%に腫瘍消失を認めた。
 4. 卵巣がんモデルにおいて SCID マウス治療群の 50%で効果判定 grade 3、NOD-SCID マウス治療群の 50%で効果判定 grade 1a~1b であった。

IV. 結 語

本研究から腫瘍溶解性 HSV が婦人科がんに対して有効であることが確認された。また腫瘍溶解性 HSV が、T 細胞活性以外に NK 細胞などの免疫細胞も活性化している可能性も考えられた。今後、腫瘍溶解性 HSV 投与下での NK 細胞活性なども詳細に検討し、臨床治療に向けてさらなる研究を進めていく必要がある。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 菅井 有 (病理学講座：分子診断病理学分野)
副査 准教授 吉野 直人 (微生物学講座：感染症学・免疫学分野)
副査 教授 坂田 清美 (衛生学公衆衛生学講座)

進行性婦人科がんに対する従来の治療効果は十分とは言えない現状であり、新規治療法の開発が急務となっている。本研究論文は、新規腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス (HSV) による抗腫瘍効果を *in vitro*, *in vivo* 双方から検証した論文である。特筆すべきは、従来の研究と異なり複数のがん由来細胞株を同一の測定方法で解析している点である。これにより、癌の差異による腫瘍溶解性 HSV の有効性を明確に比較できている。ヒト子宮頸がん由来細胞株 3 種類とヒト卵巣がん由来細胞株 4 種類に *in vitro* において腫瘍溶解性 HSV を感染させた結果では、有意差は認められないものの、癌の種類および組織型によって治療効果が異なる可能性を示した。マウスを使用した担がんモデルでは、子宮頸がん由来細胞株および卵巣がん由来細胞株ともに腫瘍溶解性 HSV の腫瘍縮小効果を証明した。また、婦人科がんにおける腫瘍縮小効果の細胞株間の違いや腫瘍消失個体例などの腫瘍溶解性 HSV による抗腫瘍効果の新規知見を初めて示した。さらに、本研究論文では SCID マウスのみならず NOD-SCID マウスも使用しており、これまでの細胞傷害性 T 細胞と腫瘍溶解性 HSV の関連ではなく、腫瘍溶解性 HSV と NK 細胞との関係性を言及した独創的な論文と考える。

本論文は、腫瘍溶解性 HSV の有効性と将来の新規婦人科がん療法の開発に役立つ有益な知見を示したといえる。学位に値する論文である。

試験・試問の結果の要旨

婦人科がんに対する新規腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス治療の検証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える。

参考論文

- 1) がん性腹水の対策と管理 (庄子忠宏, 他 6 名と共著).
産科と婦人科 80 巻, 2 号.
- 2) 深部静脈血栓症治療中にヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) を発症した巨大子宮筋腫の 1 例 (三浦雄吉, 他 6 人と共著).
産科と婦人科 86 巻, 8 号掲載予定