



Title	Targeted Killing of Migrating Glioma Cells by Injection of HTK-modified Glioma Cells
Author(s)	田村, 雅一
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40038
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	たむらまさかず 田村雅一
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 13058 号
学 位 授 与 年 月 日	平成9年3月25日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科外科系専攻
学 位 論 文 名	Targeted Killing of Migrating Glioma Cells by Injection of HTK-modified Glioma Cells (浸潤性グリオーマ細胞に対する HTK 遺伝子導入グリオーマ細胞を用いた特異的遺伝子治療)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 早川 徹 (副査) 教 授 岸本 忠三 教 授 高井 義美

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Herpes Simplex virus Thymidine Kinase (HTK) 遺伝子を発現させる組み換えレトロウイルス産生細胞を脳腫瘍内に移植し、その後抗ウイルス剤の Ganciclovir (GCV) を投与して HTK 遺伝子導入グリオーマ細胞を死滅させる治療法が、限られた臨床症例に対して試みられてきた。しかし、その結果は必ずしも満足すべきものではなかった。グリオーマ細胞は、臨床的にも、また基礎実験によっても、非常に広範に浸潤移動し、時には対側脳へも移動することが証明されている。現行の遺伝子治療では、投与近接部位より遠隔へと移動するグリオーマ細胞を死滅させることは極めて困難であると考えられる。そこで遺伝子治療法の改善を行い、浸潤した悪性グリオーマ細胞を死滅させる可能性を検討した。

【方法ならびに成績】

1) 脳内に移植されたグリオーマ細胞の浸潤性。

DiI にて蛍光ラベルされたマウスグリオーマ細胞 RSV-M (C3H/He 由来) と、ヒトグリオーマ細胞 U251-MG をそれぞれ 8 週齢の C3H/HeN 雌マウスと BALB/c-nu/nu 雌マウス脳内に移植し、4 日後に屠殺し脳切片を共焦点レーザー顕微鏡にて検索した。その結果、移植されたグリオーマ細胞が主として脳梁に沿って広範に移動していることが実証された。DiI 標識 RSV-M グリオーマ細胞を投与してから 3 日後に、DiO 標識グリオーマ細胞を同部位に定位的に移植したところ、ほぼ同じルートを通して移動し、更に 4 日後には先に移動しているグリオーマ細胞と良く混在していることが確認された。

2) HTK 遺伝子導入グリオーマ細胞を用いた標的遺伝子治療。

HTK 遺伝子導入 RSV-M 細胞を作成し、これらの細胞の浸潤移動能力を利用して、前もって脳内に移植したグリオーマ細胞に対する治療効果を検討した。8 週齢の C3H/HeN 雌マウス脳内に、 1×10^5 個の野生型 RSV-M グリオーマ細胞を移植し、移植 3 日後に 4×10^5 個の HTK 導入 RSV-M 細胞を同部位に定位的に移植した。HTK 導入グリオーマ細胞移植 4 日後より 2 週間 GCV を腹腔内投与 ($25\text{mg/kg} \times 2/\text{day}$) し、脳内残存腫瘍の有無を検討した。対照群として、1) HTK 導入 RSV-M グリオーマ細胞非投与群、2) HTK 導入腫瘍投与後 GCV 非投与群を設けた。その結果、HTK 導入 RSV-M 細胞投与後に GCV で治療した群で、有意に腫瘍抑制効果が得られた。野生型 RSV-M 細胞と HTK 導入 RSV-M 細胞が十分に脳内で混ざりあっていない早期に GCV 治療を開始した場合、

治療効果はほとんど認められなかった。

【総括】

悪性グリオーマ細胞の広範囲にわたる浸潤移動性はしばしば臨床で経験するが、今回ヒト細胞株を含む複数種類のグリオーマ細胞を用いたマウス脳内移植モデルにおいても同様の結果が得られた。さらに、前回移植部位と同じ部位に後日移植した細胞が、先に移植した腫瘍細胞と遠隔浸潤部位で混在することが実証された。遠隔部位まで移動したグリオーマ細胞は、後追いつく HTK 導入グリオーマ細胞とよく混在するようになった時期から開始される GCV 治療により、発育が抑制された。これは GCV 投与により、HTK 導入グリオーマ細胞のみならず、混在する野生型グリオーマ細胞も死滅するという Bystander 効果が働いた結果と考えられる。以上のことより、腫瘍切除後に、効率よく残存腫瘍に HTK 遺伝子を導入できれば、HTK 遺伝子導入されたグリオーマ細胞が残存腫瘍内を広範囲に浸潤移動していくので、両腫瘍が良く混在したと考えられる時期に GCV を投与することで、浸潤性の強い難治性グリオーマを抑制できる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

悪性グリオーマは極めて難治性疾患であるが、その一因として腫瘍の強い浸潤性があげられる。本疾患に対して、すでに米国などで遺伝子治療の臨床実験が行われているが、未だ満足すべき成果は得られていない。本研究はグリオーマ細胞の浸潤様式を追究するとともに、これを利用した悪性グリオーマに対する遺伝子治療法の開発を企画したものである。

まず、マウス脳内に移植したグリオーマ細胞の浸潤移動について、時期を前後して移植したグリオーマ細胞の脳内分布を検索した。その結果、脳内一定部位に移植され、すでに遠隔部へ浸潤移動したグリオーマ細胞を、後程移植されたグリオーマ細胞があたかも追いかけるように浸潤移動し、遠隔部で両者が混在していることが明らかにされた。そこで、グリオーマ細胞の脳内移植後、Herpes simplex virus Thymidine Kinase (HTK) を発現するグリオーマ細胞を追従移植し、移植細胞がよく浸潤した時期に Ganciclovir (GCV) を投与すると、グリオーマの増殖が抑制された。

このことは、浸潤移動性の高い腫瘍細胞に対し、一部の細胞に HTK を発現させると、近接腫瘍のみならず遠隔部に浸潤した腫瘍細胞をも GCV 投与にて治療させ得る可能性が示されたものであり、悪性グリオーマの治療に新しい道を拓くものと期待される。よって、学位論文に値するものと評価される。