



Title	Adenovirus-mediated gene therapy specific for small cell lung cancer cells using a Myc-Max binding motif
Author(s)	西野, 和美
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/43261">https://hdl.handle.net/11094/43261</a>
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、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>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	にし の かず み 西 野 和 美
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 4 2 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 5 月 14 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	Adenovirus-mediated gene therapy specific for small cell lung cancer cells using a Myc-Max binding motif (Myc-Max 蛋白の結合配列を組み込んだアデノウイルスベクターを用いた小細胞肺癌に対する特異的遺伝子治療)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松澤 佑次  (副査) 教 授 荻原 俊男    教 授 金田 安史

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

小細胞肺癌 (SCLC) の約60から80%の症例で見られる *myc family oncogene* の過剰発現は、治療抵抗性や予後不良に関連すると報告されている。我々はこの *myc* 遺伝子の遺伝子産物である Myc 蛋白の転写因子としての機能に着目し、SCLC 特異的遺伝子治療を行う目的で Myc-Max ヘテロダイマーの結合配列を herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-TK) gene のプロモーター上流に構築したベクター AdMycTK を作成した。この AdMycTK を感染させることにより *in vitro* で *myc* 高発現 SCLC 細胞に特異的な ganciclovir (GCV) 感受性増強を確認し、更にヌードマウスの同腫瘍による皮下腫瘍モデルおよび癌性腹膜炎モデルにおける抗腫瘍効果と副作用を検討する。

#### 【方法ならびに成績】

1. SCLC を含む複数の培養株における *myc* 遺伝子群の発現をノーザンブロット法を用いて検討した。*c-myc* の発現は SCLC 株である OC-10でヒト肺線維芽細胞株 YF-1 と比較して12.4倍増加していたが、肺腺癌細胞株 A549及び悪性胸膜中皮腫株 OC-(MT)37では各々2.1倍、2.7倍とわずかに増加していた。一方、SCLC 株 OS2-R、OS1はそれぞれ L-、N-*myc* を過剰発現していた。
2. HSV-TK gene のプロモーター領域の上流に Myc 蛋白の結合配列を有する hybrid HSV-TK gene (MycTK gene) を組み込んだアデノウイルスベクター (AdMycTK) を COS-TPC 法にて作成した。また非特異的かつ強力な CAG プロモーター下に HSV-TK gene を発現するアデノウイルスベクター (AdCATK) も今回の実験に用いた。
3. *myc* 発現の異なる細胞株において AdMycTK の感染による *in vitro* での GCV 感受性を検討した。*myc* が過剰発現している OS1、OS2-R、OC-10は AdMycTK 感染により、コントロールアデノウイルスベクター (Adcw) 感染時と比較してそれぞれ218倍、63倍、307倍の GCV 感受性増強が認められ、しかもこの感受性は AdCATK 感染時とほぼ同等であった。一方、*myc* 低発現細胞株である A549、OC-(MT)37ではいずれも Adcw 感染時よりわずか3.6倍程度の GCV 感受性にとどまっていた。したがって AdMycTK は *myc* 高発現 SCLC 特異的に GCV 感受性を増強した。
4. OS2-R、A549をヌードマウスの皮下に形成した腫瘍における抗腫瘍効果を検討した。腫瘍形成後  $5 \times 10^6$  PFU の AdMycTK を腫瘍内に注入し翌日より5日間連日 GCV を腹腔内投与する治療を1クールとし、これを3回繰り返した。

返した。*myc* 高発現株である OS2-R の場合、AdMycTK/GCV 治療群では Adcw/GCV 治療群と比較し腫瘍は平均約 1/5 の大きさとなり、10 匹中 5 匹で腫瘍が消失した。一方、*myc* 低発現株の A549 では全く腫瘍の縮小を認めなかった。

5. 播種した SCLC に対し AdMycTK による抗腫瘍効果と副作用を検討した。ヌードマウスに OS2-R による癌性腹膜炎を作成した。癌生着後に  $10^5$  PFU の AdMycTK を腹腔内投与し、翌日より 5 日間連日 GCV を腹腔内投与する治療を 3 回繰り返した。腫瘍移植後 30 日目に腹腔内の腫瘍総重量を測定した。AdMycTK/GCV 治療群では有意に腹腔内の腫瘍は小さく（対照群の約 1/5）、しかも 8 匹中 4 匹ではほとんど腫瘍は消失していた。さらに AdCATK/GCV 治療群では著明な体重減少と肝臓障害を認めたが AdMycTK/GCV 治療群ではこれらの副作用は認めなかった。

#### 【総括】

Myc 蛋白の結合配列を有する hybrid HSV-TK gene (MycTK gene) アデノウイルスベクターは *myc* 過剰発現 SCLC に対して選択的かつ安全な抗腫瘍効果を示した。

### 論文審査の結果の要旨

小細胞肺癌 (SCLC) の約 60 から 80% の症例で見られる *myc family oncogene* の過剰発現は、治療抵抗性や予後不良に関連すると報告されている。この *myc* 遺伝子の遺伝子産物である Myc 蛋白の転写因子としての機能に着目し、SCLC 特異的遺伝子治療を行う目的で Myc-Max ヘテロダイマーの結合配列を herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-TK) gene のプロモーター上流に構築したベクター AdMycTK を作成した。

*myc* 過剰発現 SCLC 細胞株は AdMycTK 感染により、コントロールアデノウイルスベクター (Adcw) 感染時と比較して 63 倍から 307 倍の GCV 感受性増強が認められたが、一方 *myc* 低発現細胞株ではいずれも Adcw 感染時よりわずかに 3.6 倍程度の GCV 感受性にとどまっていた。したがって AdMycTK は *myc* 高発現 SCLC 特異的に GCV 感受性を増強した。

次に皮下腫瘍モデルにおける抗腫瘍効果を検討した。*myc* 高発現株の場合、AdMycTK/GCV 治療群では Adcw/GCV 治療群と比較し腫瘍は平均約 1/5 の大きさとなり、10 匹中 5 匹で腫瘍が消失した。一方、*myc* 低発現株では全く腫瘍の縮小を認めなかった。

さらに癌性腹膜炎モデルによる抗腫瘍効果と副作用を検討した。AdMycTK/GCV 治療群では有意に腹腔内の腫瘍は小さく（対照群の約 1/5）、しかも 8 匹中 4 匹ではほとんど腫瘍は消失していた。さらに AdCATK/GCV 治療群では著明な体重減少と肝臓障害を認めたが AdMycTK/GCV 治療群ではこれらの副作用は認めなかった。

その結果、Myc 蛋白の結合配列を有する hybrid HSV-TK gene (MycTK gene) アデノウイルスベクターは *myc* 過剰発現 SCLC に対して選択的かつ安全な抗腫瘍効果が期待できるものと考えられた。

以上より、この論文は学位に値するものとする。