

Title	Efficient eradication of hormone-resistant human prostate cancers by inactivated Sendai virus particle
Author(s)	川口, 善史
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49834
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【60】

氏名	川口善史
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 22769 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Efficient eradication of hormone-resistant human prostate cancers by inactivated Sendai virus particle (不活化センダイウイルス粒子によるヒトホルモン抵抗性前立腺癌に対する抗腫瘍効果)
論文審査委員	(主査) 教授 井上 武宏 (副査) 教授 野口眞三郎 教授 奥山 明彦

論文内容の要旨

〔 目的 〕

不活化センダイウイルス粒子 (Hemagglutinating virus of Japan envelope:HVJ-E) はこれまで、遺伝子導入ベクターとして使用されてきたが、近年このベクター自身が免疫を活性化することにより抗腫瘍効果を有することが明らかになってきた。本研究ではヒト前立腺癌細胞に対する HVJ-E の抗腫瘍効果とその分子メカニズムを *in vitro* 及び *in vivo* で検討した。

〔 方法及び成績 〕

本研究ではヒト前立腺癌細胞 PC3、DU145、LNCap 及びヒト前立腺上皮細胞 PNT2 を使用した。HVJ-E の抗腫瘍効果を調べるために、PC3、DU145、LNCap、PNT2 に HVJ-E を投与し、24 時間後に MTS assay を施行した。その結果、LNCap と PNT2 では変化は見られなかったが、PC3、DU145 では HVJ-E の濃度依存的に viability の減少が見られた。次に HVJ-E と各細胞との融合能を見るために PKH ラベルした HVJ-E を各細胞に投与し、観察した。すると、PC3、DU145 では高率に HVJ-E が細胞に融合することが観察されたが、LNCap、PNT2 では非常に少なかった。この融合能の差は HVJ-E の細胞表面レセプターの発現の差によるものではないかと考え、各細胞のガングリオシド GD1a、SPG を High Performance Liquid Chromatography で測定した。その結果、PC3、DU145 では GD1a と SPG の発現が高いことが判明した。次に PC3 を用いたアポトーシス解析では、TUNEL 染色及び annexin V FACS 解析にて HVJ-E 群はコントロール群に比して、有意にアポトーシスが上昇していた。また、western blot 解析にて caspase 8 の上昇と caspase 3 の活性化が認められた。次に HVJ-E の作用によってどのような遺伝子変化が惹起されるかを調べるために、PC3 に HVJ-E を投与し 12 時間後の RNA を抽出してマイクロアレイ解析を施行した。その結果、上昇が認められた上位 20 遺伝子中 17 遺伝子がインターフェロン関連遺伝子であった。PC3 に HVJ-E を投与 24 時間後の培養上清中の type I IFN を ELISA にて測定すると、IFN α 、IFN β ともに上昇が認められた。この結果から、HVJ-E 投与によって誘導された IFN によってアポトーシスが惹起されているのではないかと考え、JAK 阻害剤、IFN 受容体阻害剤を使用した実験を行った。JAK 阻害剤及び IFN 受容体阻害剤を前投与した PC3 に HVJ-E を投与すると、STAT 1 のリン酸化が阻害され、caspase3、8 の発現も減少した。annexin V FACS 解析では JAK 阻害剤の前投与にてアポトーシス細胞の減少が観察された。動物実験では SCID マウスを使用した。PC3 担癌マウスに HVJ-E を腫瘍内投与したところ、腫瘍の著明な縮小が観察され、腫瘍移植 41 日後ではほぼすべてのマウスで tumor-free となった。SCID マウスモデルでの抗腫瘍効果における NK cell の寄与を調べるために、抗 asialo-GM1 抗体を使用して NK cell を depletion すると、やや抗腫瘍効果は減弱したが、なお PBS 群に比して HVJ-E+抗 asialo-GM1 抗体群で有意な腫瘍増殖の抑制が観察された。

〔 総括 〕

今回研究に使用したヒトホルモン抵抗性前立腺癌 PC3、DU145 は細胞表面にガングリオシドの GD1a、SPG の発現が多かった。そのため、HVJ-E は受容体である GD1a、SPG が細胞表面に多く発現するホルモン抵抗性ヒト前立腺癌 PC3、DU145 に高率に融合した。HVJ-E が癌細胞に融合することで、癌細胞融合死や type I IFN を誘導による JAK/STAT pathway を介したアポトーシス惹起によって抗腫瘍効果を示すことがわかった。また、SCID マウスを用いた PC3 皮下腫瘍モデルでは、HVJ-E の腫瘍内投与 (一回 5000HAU、計 3 回) にて著明な抗腫瘍効果が観察された。HVJ-E は免疫を賦活化させるだけでなく、それ自身でも直接の腫瘍細胞死誘導による抗腫瘍効果を持つことが示され、ホルモン抵抗性前立腺癌治療に有用である可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

不活化センダイウイルス粒子 (HVJ-E) によるヒト前立腺癌に対する抗腫瘍効果とそのメカニズムを

検討した。ヒト前立腺癌及びヒト前立腺上皮細胞にHVJ-Eを投与後の細胞生存率を調べた。ヒト前立腺上皮細胞及びホルモン感受性前立腺癌細胞の生存率は変化しなかったが、ホルモン抵抗性前立腺癌細胞はHVJ-E濃度依存的に生存率が減少した。ホルモン抵抗性前立腺癌ではHVJ-Eのレセプターが増加していることが判明し、ホルモン抵抗性ヒト前立腺癌にHVJ-Eが高率に膜融合した。ホルモン抵抗性前立腺癌PC3ではHVJ-E投与で有意にアポトーシスが増加した。これはHVJ-EがPC3に作用し、I型インターフェロンの分泌を促進し、それがJAK/STAT経路を活性化してアポトーシスを導いたことが原因であった。動物実験ではHVJ-E治療にてほぼすべてのマウスで腫瘍の消失が認められた。以上の結果より、本論文は学位論文に値する。