

Title	第三世代がん治療用単純ヘルペスウイルス I 型 G47Δ を用いた口腔扁平上皮癌の新規治療戦略
Author(s)	内橋, 俊大
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52351
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

氏 名 (内橋 俊大)	
論文題名	第三世代がん治療用単純ヘルペスウイルスI型 G47Δ を用いた 口腔扁平上皮癌の新規治療戦略
論文内容の要旨	
<p>【緒言】</p> <p>口腔扁平上皮癌 (Oral squamous cell carcinoma、以下 OSCC) の治療においては、手術、放射線、および化学療法を併用した集学的治療が行われているが、進行症例や再発症例に対しては必ずしも充分ではなく、手術による大きな侵襲は、患者の QOL の著しい低下をきたす。また、OSCC は、しばしば頸部リンパ節に転移し、その予後は極めて悪いことから、頸部リンパ節転移の制御は、OSCC 治療における大きな課題である。すなわち、低侵襲で、頸部リンパ節転移に対応し得る治療法の開発が求められている。G47Δ は、2001 年、藤堂らにより世界で初めて作製された、三重変異を有するがん治療用単純ヘルペスウイルス I 型 (HSV-1) である。腫瘍細胞でのみ高いウイルス複製能を有し、全身性的の特異的抗腫瘍免疫を強力に惹起し、また同時に高い安全性を保持していることが知られている。G47Δ を用いたウイルス療法は、すでに東京大学において、膠芽腫、前立腺癌、嗅神経芽細胞腫を対象に臨床試験が進行中である。本研究は臨床応用に向けて、G47Δ の OSCC に対する <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> における抗腫瘍効果を検討した。</p> <p>【方法】</p> <p>ヒト OSCC 細胞株 (SAS、OSC-19、SCC-4 および HSC-3) およびマウス扁平上皮癌 (Squamous cell carcinoma、以下 SCC) 細胞株 (KLN205-MUC1) を用い、<i>in vitro</i> における G47Δ の殺細胞効果ならびにウイルス複製能を調べた。次に、ヌードマウスにおいて、SAS 皮下腫瘍モデル、DBA/2 マウスにおいて KLN205-MUC1 皮下腫瘍モデルを作成し、<i>in vivo</i> における G47Δ の抗腫瘍効果を確認した。さらに、SAS、HSC-3 および KLN205-MUC1 を用いてマウス舌がんモデルを作成し、G47Δ をマウス舌腫瘍内に投与して、その生存期間を観察した。この実験系において、SAS には GFP を遺伝子導入し、頸部リンパ節転移の有無を蛍光顕微鏡にて観察し、免疫染色およびリアルタイム PCR にて、頸部リンパ節転移への G47Δ の移行および抗腫瘍効果を評価した。また、KLN205-MUC1 舌がんモデルにおいては、頸部リンパ節転移への G47Δ の直接投与による抗腫瘍効果も検討した。さらにリンパ節へ移行した G47Δ の、正常免疫下での長期的な抗腫瘍効果を検討するため、KLN205-MUC1 舌がんモデルでは、G47Δ もしくは mock の舌腫瘍内への投与後、舌腫瘍を切除して生存期間を観察した。</p> <p>【結果】</p> <p>G47Δ はヒト OSCC 細胞株において、<i>in vitro</i> で優れた殺細胞効果およびウイルス複製能を示した。マウス SCC 細胞株である KLN205-MUC1 は、G47Δ に感受性が低かった。また <i>in vivo</i> において、SAS 皮下腫瘍では、G47Δ は高い腫瘍縮小効果を認めたものの、KLN205-MUC1 皮下腫瘍に対しては、顕著な抗腫瘍効果は認めなかった。本研究で作成した舌がんモデルは、いずれも頸部リンパ節転移を起こし、特に KLN205-MUC1 舌がんモデルでは、舌腫瘍の生</p>	

着後、腫瘍を切除し経過観察していると、頸部リンパ節の腫脹、多発性の肺転移を認め、これらが死因となることから、臨床における OSCC の進行過程と類似しているモデルであることが確認できた。KLN205-MUC1 舌がんモデルにおいて、舌腫瘍を切除し、進行頸部リンパ節転移へ G47Δ を直接投与すると、生存延長効果を認めた。SAS-GFP および HSC-3 舌がんモデルにおいては、G47Δ の舌腫瘍内投与は、有意にマウスの生存期間を延長させた。さらに SAS-GFP 舌がんモデルにおいて、G47Δ の原発巣への投与はリンパ節転移を顕著に抑制し、免疫染色でリンパ節転移巣への G47Δ の感染を認めた。さらにリアルタイム PCR の結果から、舌腫瘍内へ投与した G47Δ は、投与直後にリンパ節へ移行していることが示唆され、担がんマウスの舌腫瘍へ G47Δ を投与すると、非担がんマウスの舌へ G47Δ を投与した時と比べ、有意にリンパ節での G47Δ の DNA は増加していたことから、リンパ節へ流入した G47Δ は、転移巣において腫瘍特異的に増殖することが示唆された。また、KLN205-MUC1 舌がんモデルにおいても同様に、G47Δ の舌腫瘍内投与により、18 時間後には頸部リンパ節転移巣での G47Δ の感染が免疫染色で検出されるものの、時間の経過と共に検出困難となり、リアルタイム PCR でも G47Δ の DNA は、10 分後にすでに検出されるものの、継続的に減少した。しかし、KLN205-MUC1 舌腫瘍への G47Δ または mock 投与後に舌腫瘍切除を行うと、G47Δ 投与群は、mock 投与群に比べ有意に生存期間が延長した。このことから、正常免疫下においても、G47Δ のリンパ節転移巣へ流入、感染は、長期的なリンパ節転移の抑制効果があることが示唆された。これらの結果から、臨床上頸部リンパ節がなく、原発巣の手術による治療方法を選択する場合でも、術前に原発巣へ G47Δ を投与することにより、後発転移を制御し得ることが示唆された。

【結論】

G47Δ は OSCC に対し、*in vitro* ならびに *in vivo* において、優れた抗腫瘍効果を示した。G47Δ を用いたウイルス療法は、マウス舌がんモデルにおいて、舌がん原発巣内への投与により、原発巣のみならずリンパ節転移巣に対しても有効であったことから、G47Δ は、低侵襲かつリンパ節転移を抑制し得る、OSCC の有効な治療法に成り得ることが示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (内 橋 俊 大)	
	(職) 氏 名
論文審査担当者	主 査 教授 古郷 幹彦
	副 査 教授 由良 義明
	副 査 准教授 小川 裕三
	副 査 講師 柿本 直也
論文審査の結果の要旨	
<p>本研究では口腔扁平上皮癌の治療において、頸部リンパ節転移を制御し、口腔機能および審美を保持できる新たな治療法として、第三世代がん治療用単純ヘルペスウイルス I 型である G47Δ を臨床応用することを目的に、マウス舌がんモデルを作成し、その治療効果を検討している。</p> <p>マウス舌がんモデルにおいて、舌腫瘍への G47Δ 投与は、進行期がんの生存期間の延長と頸部リンパ節の制御に効果的であることを示した。また、進行頸部リンパ節転移巣への G47Δ 直接投与も生存の延長効果を認めたことから、頸部リンパ節転移に対して G47Δ の投与が有効であることが明らかとなった。</p> <p>本研究は、G47Δ を用いることで頸部リンパ節転移の制御および QOL の保持という口腔扁平上皮癌の治療において非常に重要な効果をもたらすという新たな知見を明らかにした。</p> <p>よって、博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。</p>	