




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第439号	氏名	川口 孝二
審査委員会委員	主査氏名	藤 木 稔	
	副査氏名	白尾 国昭	
	副査氏名	万年 和明	
論文題目			
Efficacy of oncolytic reovirus against human gastric cancer with the peritoneal metastasis in experimental animal model (胃癌腹膜播種に対する制限増殖型レオウイルスの抗腫瘍効果についての検討)			
論文掲載誌名： International Journal of Oncology, 2010, in press			
論文要旨			
<p>レオウイルスは2本鎖 RNA ウイルスであり、癌細胞内で特異的に増殖し細胞溶解的に働くことが知られている。膀胱癌、乳癌などの抗腫瘍効果が報告されてきたが、治療法の未確立である腹膜播種を伴う胃癌に対する抗腫瘍効果はあきらかではない。</p> <p>申請者はレオウイルスセロタイプ3を用い in vitro および in vivo で胃癌に対する抗腫瘍効果を検討した。In vitro では胃癌細胞株 (MKN45p, NUGC4, MKN7, KatoIII) およびマウス繊維芽細胞 (正常対照細胞: NIH3T3) に対するレオウイルスの殺細胞効果(胃癌生細胞数の経時変化), レオウイルス mRNA, Ras 活性を評価した。In vivo では NKM45p (5×10^6) 腹膜播種モデルに対するレオウイルス投与群の腹膜播種結節個数、総重量、腹水量、結節 HE 組織像およびレオウイルス mRNA を評価した。</p> <p>その結果、レオウイルス感染により、正常対照細胞と比較してすべての胃癌細胞株において生細胞数減少、Ras 活性の上昇が、胃癌腹膜播種モデルにおいて腹膜播種結節個数・総重量・腹水量減少、結節内壊死・融解像およびレオウイルス由来 mRNA 発現が見られた。これらの結果から申請者らは、レオウイルスが Ras 活性化を介して胃癌の腹膜播種に対し腫瘍選択的に抗腫瘍効果を示し、作用機序、投与方法の検討を経て臨床応用の可能性が期待できると結論している。</p> <p>本研究は、レオウイルスが Ras 活性化を介して胃癌腹膜播種モデルに対しする抗腫瘍効果を in vitro ならびに in vivo で証明したものであり、その価値を考慮し、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

学 位 論 文 要 旨

氏名 川口 孝二

論 文 題 目

Efficacy of oncolytic reovirus against human gastric cancer with peritoneal metastasis
in experimental animal model

(胃癌腹膜播種に対する制限増殖型レオウイルスの抗腫瘍効果についての検討)

要 旨

I. 諸言 レオウイルスは2本鎖RNAウイルスであり、標的とする癌細胞内で特異的に増殖し、細胞溶解を起こす制限増殖型ウイルスとして注目されている。その機序は、Ras経路が活性化した細胞においてPKRのリン酸化が阻害されレオウイルスの複製が進み細胞溶解を起こすとされている。それゆえにレオウイルスは他の様々な悪性腫瘍に対しても感受性を持ち、現在まで我々は膀胱癌、乳癌に対してその抗腫瘍効果を示してきた。一方、腹膜播種を伴う胃癌はいまだ予後不良であり有効な治療法の開発が望まれる。今回我々は、制限増殖型レオウイルスの胃癌腹膜播種に対する抗腫瘍効果を検討した。

II. 研究対象および方法 ウイルスはレオウイルスセロタイプ3を用いた。ヒト胃癌細胞株を4種類 (MKN45p, NUGC4, MKN7, KatoIII)、正常対照細胞としてマウス線維芽細胞 (NIH3T3) を用いた。In vitroでは、胃癌細胞株に対するレオウイルスの殺細胞効果の評価を行った。MOI=10にてレオウイルスを胃癌細胞に感染させ生細胞数の変化、形態変化の観察を1週間行った。感染細胞へのレオウイルス取り込みを確認するため、RT-PCR法を用いレオウイルスmRNAを検出した。ELISA法を用い各胃癌細胞株およびコントロール細胞株のRas活性を測定した。

In vivoでは、6週齢ヌードマウスの腹腔内にヒト胃癌細胞株MKN45p (5×10^6) を投与し、腹膜播種モデルを作成した。レオウイルス投与群 (n=10)、コントロール群 (n=10) の2群にわけ、投与群にはレオウイルス (1×10^8 PFU) を3日間連続腹腔内投与した。コントロール群にはPBSを投与した。各群ともヒト

胃癌細胞株腹腔内投与18日後に犠死させ、腹膜播種結節個数および総重量、腹水量を測定した。また、腹膜播種結節を用いて、RT-PCR法によりレオウイルスmRNAを検出した。またHE染色にて病理組織学的評価を行った。

III. 結果 *In vitro*では、すべての胃癌細胞株は対照細胞株と比較してレオウイルスの感染による経時的な細胞形態変化および生細胞数の減少を認め、RT-PCR法によりウイルス由来のmRNAの発現が確認された。ELISA法によるRas活性測定では、すべての胃癌細胞株において対照細胞株およびコントロールと比較してRas活性の上昇を認めた。*In vivo*では、レオウイルス投与群では有意に総腹膜播種結節個数・総重量・腹水量の減少を認めた ($p < 0.05$)。RT-PCR法によりレオウイルス投与群の腹膜播種結節にウイルス由来のmRNAの発現を認めた。またレオウイルス投与群においてのみ、病理組織学的に播種結節内に壊死・融解が見られた。

IV. 考察 今回の実験では、使用したすべての胃癌細胞株にレオウイルスは感受性を示した。Ras活性に依存する可能性が示唆されたが、Rasシグナル経路の下流の因子も含め、さまざまな経路によりRasの活性化が引き起こされるため、今後メカニズムの解明が必要と思われる。また、レオウイルスの腹腔内投与により胃癌腹膜播種に対し腫瘍選択的に効果を示していたことから臨床応用への可能性が示された。

V. 結語 レオウイルスは胃癌腹膜播種に対して抗腫瘍効果を示した。胃癌に対する新しい治療法の一つになる可能性があると思われる。