



Title	増殖型レトロウイルスシステムを用いた肺癌に対するプロドラッグ活性化遺伝子治療に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	櫛谷, 洋樹
Description	配架番号 : 2797
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15571号
Issue Date	2023-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/90402
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	KUSHIYA_Hiroki_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 櫛谷 洋樹

主査 教授 松野吉宏
審査担当者 副査 教授 加藤達哉
副査 教授 園下将大

学 位 論 文 題 名

増殖型レトロウイルスシステムを用いた
肺癌に対するプロドラッグ活性化遺伝子治療に関する研究
(Strategy for prodrug activator gene therapy of lung cancer by retroviral replicating vector)

増殖型レトロウイルスベクター (Retroviral replicating vector:RRV)を用いたプロドラッグ活性化遺伝子治療は、抗真菌薬である 5- fluorocytosine を抗癌剤である 5-fluorouracil に変換し抗腫瘍効果を発揮する。本学位論文はこの治療システムを肺癌に応用し有効性を検討したものである。

審査にあたり副査の園下教授より、なぜ肺癌を選択したのかと質問があった。申請者は膀胱癌に対する RRV の治療実験の経験に触れた。膀胱癌は間質成分が多く RRV が腫瘍細胞に到達しない可能性と、後腹膜臓器であり臨床応用の際に投与経路が難しいことが予想された。その経験を活かし膀胱癌と比較し肺癌は間質成分が少ないこと、臨床応用の際も胸腔ドレーンを介して RRV の投与が簡便であるため肺癌を選択したと回答した。続いて、臨床の肺癌患者において、この治療はどのような位置付けになると予想されるかと質問があった。申請者は RRV を用いたプロドラッグ活性化遺伝子治療は副作用が少なく、忍容性が高い治療法と推察され、今回の実験モデルである胸膜播種の患者さんなどに効果を発揮することが予想されると回答した。次に、本治療が有効な遺伝子変異などはあるのかとの質問があり、米国で行われた脳腫瘍に対する臨床試験においても有効な遺伝子変異などは指摘されておらず、今後の課題と回答した。続いて、本治療システムの免疫賦活化はどのような細胞が担っているかと質問があった。申請者は、主に CD4(+)T 細胞と CD8(+)細胞が担っており、その中では CD4(+)T 細胞がより重要な役割を果たしていると回答した。続いて、副査の加藤教授より Ex-3LL において RRV の感染動態が緩徐であること、RRV の遺伝子導入効率が低いのはなぜかと質問があった。申請者は感染が緩徐である理由として、PiT-2 受容体を介して RRV は細胞内に取り込まれるが、その発現頻度が感染動態に影響を及ぼしている可能性があるかと回答した。また、RRV の遺伝子導入効率が低い理由として、分母となるマウス遺伝子の Tfrc が存在する染色体が異数体になっている可能性と、非特異的な増殖により PCR の値が実際とは異なっている可能性があるかと回答した。また、Ex-3LL では感染効率が悪いにも関わらず、皮下腫瘍モデルにおいて腫瘍が完全制御できた個体があるのはなぜかと質問があった。申請者は CD4(+)T 細胞や CD8(+)細胞による抗腫瘍免疫効果によるものと回答した。続いて、RRV の生体内分布において分裂が活発な脾臓や骨髄などの組織に多く取り込まれているが、同じく分裂が活発な小腸で検討は行ったかと質問があった。申請者は小腸の RRV copy 数の検討においては、腸液の contamination が排除できないと考え行わなかったと回答した。次に、同じような癌遺伝子治療を用いた先行研究はあるのかとの質問があった。申請者は脳腫瘍

に対する癌遺伝子治療で G47 Δ を例に挙げた。これは腫瘍細胞特異的に感染するよう改変された oncolytic virus であり臨床導入されているが、今回用いた RRV は non-oncolytic virus であり新しい治療方法となる。また以前にアデノウイルスを用いた肺癌に対する臨床試験が行われていたが、遺伝子導入効率が悪く新しいウイルスベクターが求められていると回答した。続いて、主査の松野教授から RRV の感染効率やプロドラッグの有効性に関して、肺癌細胞の因子で分かっていることはあるかと質問があった。今回の研究では肺癌細胞の RRV の有効性に関する因子の検討は行っておらず今後の検討課題であると回答した。主査の松野教授から、治療の個別化という点からも肺癌細胞の RRV に関連する遺伝子変異の解析が今後必要であると提案があった。次に、RRV の生体内分布に関して個体間で copy 数にばらつきがあるが、原因は何かと質問があった。申請者は PCR の精度の問題によりある程度のばらつきは許容されると答えつつ、治療群でありプロドラッグの効果によって RRV の copy 数にばらつきが生じていると回答した。次に、正常組織への毒性の評価は行えているかと質問があった。申請者はマウスの治療実験であり、症状を含めた副作用を検討することは難しいとしつつも、腫瘍細胞と比較すると非常に少ない RRV の copy 数であり無視できる範囲ではないかと回答した。

本研究は、RRV を用いたプロドラッグ活性化遺伝子治療が肺癌に対して有効であることを前臨床試験で示したものであり、今後、肺癌治療への応用が期待される。審査員一同はこれらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位も併せ、申請者が博士(医学)の学位を授与されるのに十分な資格を有すると判定した。