

京都大学	博士 (医学)	氏名	豊田 英治
論文題目	Midkine promoter-based conditionally replicative adenovirus therapy for midkine-expressing human pancreatic cancer (ミッドカイン遺伝子プロモーターによる制限増殖型アデノウイルスを用いた膵癌の治療)		
(論文内容の要旨)			
<p>ミッドカインはレチノイン酸に誘導されるヘパリン結合性成長因子であり、食道癌、大腸癌、膵臓癌などで、それぞれの正常組織と比較し、過剰発現すると報告されている。一方、成人の正常組織での発現は極めて低い。この発現差異を利用し、アデノウイルス増殖に必須のE1A遺伝子をミッドカイン遺伝子プロモーター制御下においたアデノウイルス(Ad5MK)が、ミッドカイン発現膵癌細胞株に対して<i>in vitro</i>、<i>in vivo</i>で選択的に腫瘍増殖を抑制し得るか検討した。</p> <p>材料は京都大学で手術切除した浸潤性膵管癌22名の手術検体と、7株の膵癌細胞株を用いて行った。定量的PCRによる浸潤性膵管癌22名の癌部22例、非癌部18例のミッドカイン発現量の検討では、癌部でのミッドカイン発現が有意に増加していた。7株の膵癌細胞株のミッドカイン発現量の検討では、AsPC-1、CFPAC-1細胞株では強発現、BxPC-3、HPAC、Suit-2細胞株で中等度発現、PANC-1細胞株で弱発現、MIAPaCa-2細胞株では発現を認めなかった。</p> <p>膵癌細胞株のミッドカイン遺伝子プロモーターによる転写活性検討では、転写活性とミッドカイン発現は相関していた。膵癌細胞株のアデノウイルス感受性検討では、CFPAC-1、Suit-2細胞株は高感受性、AsPC-1細胞株は非常に感受性が低かった。Ad5MKを膵癌細胞株に感染させたところ、アデノウイルスに感染感受性を持ち、かつミッドカイン発現を認めるSuit-2、PANC-1細胞株ではAd5MKの増殖を示したが、アデノウイルスに感染感受性を持ち、ミッドカイン発現を認めないMIAPaCa-2細胞株ではAd5MKの増殖は認めず、ミッドカイン発現を認め、アデノウイルスに感染感受性の乏しいAsPC-1細胞株でも増殖はほとんど認めなかった。<i>in vitro</i>におけるAd5MKによる膵癌細胞株の殺細胞効果は、Suit-2、PANC-1細胞株で強い殺細胞効果を示したが、ミッドカイン発現を認めないMIAPaCa-2細胞株や、アデノウイルスに感受性の乏しいAsPC-1細胞株では殺細胞効果は認めなかった。</p> <p>次に<i>in vivo</i>でアデノウイルスAd5MKの増殖と殺細胞効果について検討した。ヌードマウスでSuit-2細胞株の皮下腫瘍モデルを作成し、その皮下腫瘍にAd5MKを注射した。注射後、皮下腫瘍からRNAを抽出し、RT-PCRを行ったところ、E1ARNAが確認され、<i>in vivo</i>でもAd5MKの増殖を確認した。またヌードマウスでSuit-2細胞株の腹膜播種モデルを作成し、Ad5MKによる治療効果をコントロール群と生存日数で比較したところ、有意差を持ってAd5MK治療群に生存期間の延長を認めた。</p> <p>ミッドカイン発現は膵癌において発現を増強しており、またAd5MKは、ミッドカイン陽性細胞に対して、<i>in vitro</i>、<i>in vivo</i>同様選択的に抗腫瘍効果を認めた。以上の結果は、ミッドカインプロモーターによる制限増殖型アデノウイルスが、膵癌に対する治療に有効である可能性を示唆するものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、ヒト膵癌細胞株、切除膵癌標本におけるミッドカイン発現検討および *in vitro*、*in vivo* でのヒトミッドカインプロモーターによる制限増殖型アデノウイルスであるAd5MKの抗腫瘍効果を検討した。

7株のヒト膵癌細胞株のミッドカイン発現量の検討では、AsPC-1、CFPAC-1細胞株では強発現、BxPC-3、HPAC、Suit-2細胞株で中等度発現、PANC-1細胞株で弱発現、MIAPaCa-2細胞株では発現を認めなかった。また切除膵癌標本の、定量的PCRによるミッドカイン発現量の検討では、癌部でのミッドカイン発現は非癌部に対して有意に増加していた。

Ad5MKのウイルス複製は、midkineの発現に特異性を認め、*in vitro*におけるAd5MKによる膵癌細胞株の殺細胞効果は、Suit-2、PANC-1細胞株で強い殺細胞効果を示したが、ミッドカイン発現を認めないMIAPaCa-2細胞株や、アデノウイルスに感受性の乏しいAsPC-1細胞株では殺細胞効果は認めなかった。

また*in vivo*でAd5MKの増殖と殺細胞効果について検討した。ヌードマウス皮下腫瘍モデルを作成し、その皮下腫瘍にAd5MKを注射した。注射後、皮下腫瘍からRNAを抽出し、RT-PCRを行ったところ、E1ARNAが確認され、*in vivo*でもAd5MKの増殖を確認した。ヌードマウス腹膜播種モデルを使用し、Ad5MKによる治療効果をコントロール群と生存日数で比較したところ、有意差を持ってAd5MK治療群に生存期間の延長を認めた。

これらのことより、ミッドカイン発現が膵癌において発現を増強しており、またAd5MKは、ミッドカイン陽性細胞に対して、*in vitro*、*in vivo*同様選択的に抗腫瘍効果を認めることが示された。

以上の研究は、膵癌におけるミッドカイン発現および制限増殖型アデノウイルスを使用した遺伝子治療の解明に貢献し、膵癌に対する有効な治療の一つとして寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成21年1月26日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降