

氏名 小 岸 淳 一
 学位(専攻分野) 博士 (医学)
 学位記番号 医博第2163号
 学位授与の日付 平成11年11月24日
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
 研究科・専攻 医学研究科外科系専攻
 学位論文題目 Mutant herpes simplex virus-mediated suppression of retinoblastoma
 (変異型単純ヘルペスウイルスによる網膜芽細胞腫の増殖抑制)

論文調査委員 (主査) 教授 野田 亮 教授 伊藤嘉明 教授 本田孔士

論 文 内 容 の 要 旨

網膜芽細胞腫は眼科領域における代表的な悪性腫瘍であり、化学療法、放射線療法、冷凍凝固、レーザー光凝固、眼球摘出により現在でも良好な治療成績を得ているが、両眼発症例で一眼に眼球摘出を施行したのち、他眼に放射線療法を行うと生命予後が悪化する。変異型単純ヘルペスウイルスは中枢神経由来の腫瘍の増殖を種々の動物実験モデルで腫瘍選択的に抑制することが知られている。今回、変異型単純ヘルペスウイルス hrR3 を用い網膜芽細胞腫 Y79 に対する増殖抑制能を培養細胞系および動物実験系で検討した。このウイルスは増殖能に富む腫瘍細胞で過剰に発現しているリボヌクレオチド・レダクターゼ (RR) をコードする遺伝子を欠いている。RR は DNA 前駆体の生合成に必須のタンパクであり、そのため hrR3 は腫瘍細胞でのみ自己複製し、このウイルスが持つ細胞融解能により腫瘍細胞が選択的に破壊される。また、hrR3 は lacZ をコードする遺伝子が挿入されているためウイルスが活発に増殖している細胞では X-gal 染色陽性となり、hrR3 の増殖を組織学的に確認できる。Y79 培養細胞系で hrR3 は重複感染度 (1 細胞あたりに感染させたウイルス粒子数) 0.1、感染後 3 日および 5 日後において対照と比較してそれぞれ 69% および 87% の Y79 の成長を抑制した。同じ系において感染後 3 日で Y79 の 70% 以上で X-gal 染色陽性を認め hrR3 の活発な増殖が示された。ヌードマウスの皮下に Y79 を継代培養し、直径 7 mm 以上になった時点で無作為に 2 つのグループに分け、一方に 5×10^7 pfu/100 μ l の hrR3 を、他方に 100 μ l のウイルスバッファーのみを注入したモデルで hrR3 は感染後 14 日、21 日、28 日目に対照と比較して腫瘍の増殖を有意に抑制し、腫瘍細胞で X-gal 陽性であった。以上から hrR3 は Y79 の増殖を in vitro および in vivo で細胞溶解的に抑制することが示され、集学的治療法の一助となる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

変異型単純ヘルペスウイルスの 1 つである hrR3 の網膜芽細胞腫 Y79 に対する増殖抑制能を in vitro および in vivo で検討した。hrR3 は増殖能に富む腫瘍細胞で過剰に発現する、DNA 前駆体の生合成に必須なリボヌクレオチド・レダクターゼをコードする遺伝子を欠いている。そのため hrR3 はその細胞融解能により腫瘍細胞を選択的に破壊することが期待される。また hrR3 は lacZ をコードする遺伝子が挿入されているため、ウイルスが活発に自己複製している細胞では X-gal 染色陽性となり、ウイルスが実際に増殖していることを示す指標となる。In vitro で hrR3 は 1 細胞あたりのウイルス粒子数 (MOI) 0.004, 0.02, 0.1 で感染後 3 日、MOI 0.1、感染後 5 日においてそれぞれ 5%, 30%, 69%, 87% の Y79 の成長を抑制し、感染後 3 日で Y79 の 70% 以上で X-gal 染色陽性となった。ヌードマウス皮下腫瘍に 5×10^7 pfu/100 μ l の hrR3 を注入したモデルで、hrR3 は感染後 14 日、21 日、28 日目に対照と比較して腫瘍の増殖を有意に抑制し、hrR3 感染後 7 日の腫瘍細胞では X-gal 陽性の部位が巨視的に認められた。以上より hrR3 は Y79 の増殖を in vitro および in vivo で抑制することが示された。

以上の研究は変異型ヘルペスウイルスの網膜芽細胞腫に対する増殖抑制効果の解明に貢献し、網膜芽細胞腫の遺伝子治療

研究に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あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年9月13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。