76 HSV1型変異株を用いた卵巣癌腹膜播種に対する新たな遺伝子治療の可能性に関する基礎的研究

愛知県がんセンター¹, 名古屋大保健学科², 豊橋市民病院³
那波明宏¹, 後藤節子², 中西 透¹, 菅沼信彦³, 葛谷和夫¹

【目的】進行卵巣癌に対する新たな治療戦略を確立するために、卵巣癌腹膜播種ヌードマウスモデルにおいて、ヒト単純ヘルペスウイルス1型 (HSV1) 変異株及び taxol による治療効果を比較検討した。【方法】ICP6 gene を lac-Zgene の挿入により不活化した HSV1 型変異株 (hrR3) 並びに ICP6 gene を不活化し、さらに感染細胞に細胞融合を誘導する形質を獲得した HSV1 型変異株 (HR225) を作製した。7週齢雌 BALBc/nunu 腹腔内に 1×10^7 HRA 卵巣癌細胞を注入移植後 7, 14 日目に 5×10^7 pfu (high titer), 1×10^7 pfu (low titer) の各ウイルス、或いは、taxol (20mg/kg) を腹腔内投与した。Low titer ウイルス投与群では、2回目のウイルス投与後 5, 10 日目に ganciclovir (GCV) (1mg/body; i.p.) を追加投与した。各治療群における生存率の有意差検定は Log-Rank 法にて評価し、ウイルス導入効果の経時の変化を X-gal 染色により判定した。さらに、抗腫瘍効果を病理学的に検討した。【成績】無治療群では腫瘍細胞接種後 16 日までに全例死亡した。これに対して腫瘍接種後 60 日以上長期生存は、HR225 (low titer) plus GCV 治療群の 71%, hrR3 (high titer) 治療群の 67% に見られ、taxol 単独治療群と比較して著しい生存率の改善が認められた ($p < 0.0001$)。HSV ベクター注入後 10 日目、30 日目ともに腫瘍組織内にもみ blue-stained 感染細胞を認め、その部位に一致してアポトーシスによる抗腫瘍効果を認めた。他方、肝臓、腎臓、小腸腸管上皮といった正常組織切片においては、ウイルス感染細胞は検出されなかった。【結論】HSV1 型変異株を用いた卵巣癌腹膜播種治療への可能性が示唆された。

77 CA125 遺伝子プロモーターを用いた細胞障害性卵巣癌特異的アデノウイルスの作成

愛媛大
濱田雄行, 伊藤昌春

【目的】CA125 は、漿液性卵巣癌の良好な腫瘍マーカーとして臨床的に用いられ、その血中値は臨床像によく相関する。最近、PSA, AFP 等のプロモーターを用いた臓器特異的遺伝子治療が試みられ、その有効性が報告されている。さらに、E1B deletion type の細胞障害性アデノウイルスベクターが従来の p53 あるいは thymidine kinase を用いたアデノウイルスによる遺伝子治療より高い抗腫瘍効果のあることが臨床的に明らかにされている。我々は、すでに、CA125 遺伝子プロモーターが卵巣癌細胞株に高いプロモーター活性を有し、これが卵巣癌に臓器特異的であることを明らかにした。アデノウイルスは E1A および E1B 遺伝子により replicate することが明らかにされているが、今回 E1A 遺伝子プロモーターを CA125 遺伝子プロモーターに置換し、卵巣癌特異的な細胞障害性卵巣癌特異的アデノウイルスの作成を行った。【方法】CA125 遺伝子プロモーターをアデノウイルスの 552bp の位置に T を挿入し、Age I site を作成しこの部分に CA125 遺伝子プロモーターを挿入し、その活性を検討した。【成績】CA125 遺伝子プロモーターは、転写開始点より上流 2kb に高い転写活性を有し、SV-40 のほぼ 3 倍程度であった。作成した細胞障害性卵巣癌特異的アデノウイルスは、卵巣癌細胞株 SKOV3 において特異的に増幅し、IC50 は 0.1 MOI であった。【結論】CA125 遺伝子プロモーターを用いた細胞障害性卵巣癌特異的アデノウイルスは、卵巣癌の遺伝子治療に有効であることが示唆された。

78 マウス骨髄由来樹状細胞を用いた HER2cDNA の遺伝子銃による DNA ワクチン増強効果

三重大
小畑英慎, 谷田耕治, 西浦啓助, 奥川利治, 豊田長康

【目的】我々はこれまでに原癌遺伝子 HER2 がマウス同系腫瘍で癌退縮抗原となり、マウスの HER2 特異的 CTL の抗原エпитオプのひとつが p63-71 ペプチドであることを示してきた。今回このペプチドを用いたワクチン接種時に、アジュバントとして樹状細胞を用い、その抗腫瘍性効果を検討した。【方法】今回我々は、HER2 p63-71 を含む N 末端から 147 個のアミノ酸の cDNA を、発現ベクター pCAGGS に組み込み、金粒子にコーティングし、遺伝子銃でマウスを免疫する際に、同系マウス骨髄より調整した樹状細胞を同部位に接種し、脾細胞の CD8 陽性細胞を選択的に採取し、ELISPOT アッセイで HER2p63 特異的 IFN γ 産生 CD8 陽性 T 細胞数を自動測定器を用いて測定した。【成績】HER2 単独免疫と比べ、同時に樹状細胞を接種した免疫では、最大 3 倍にまで HER2p63 特異的 IFN γ 産生 CD8 陽性 T 細胞数が増加したが、個々の細胞が産生する IFN γ 量には大きな変化は認められなかった。また樹状細胞の接種量依存性に細胞数は増加した。これは樹状細胞を同時に接種することにより、HER2 に対する DNA ワクチンの抗腫瘍性が著明に増加したことを示している。【結論】アジュバントとして樹状細胞を用いることにより、原癌遺伝子 HER2 プラスミド DNA による癌ワクチン療法の効果増強をみとめた。このことは臨床応用への有用性が強く示唆された。