

論文の要旨

申請者 田中 伸吾

研究論文題目

頭頸部扁平上皮癌に対する uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスによる新規治療法の検討

1 目的

頭頸部扁平上皮癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) は、近年の標準療法の進歩により局所制御率の向上が得られつつあるものの、5年生存率が約 50%と予後不良な疾患である。頭頸部領域に特異な点として、発声、構音、嚥下、呼吸などの機能温存と治療成績の向上の両立を目指すことが重要な課題であり、新規治療法の開発が望まれている。

セリントタイプのプロテアーゼである urokinase-type plasminogen activator (uPA) は、悪性腫瘍で広く発現しており、腫瘍の増殖・浸潤・転移に関与する。発現強度は癌の悪性度と相関を持ち、HNSCC でも高強度の発現を認める。これまでセンダイウイルスを改変し、癌特異的なプロテアーゼである uPA 活性依存的に細胞融合を誘導する腫瘍溶解性ウイルスが開発され、いくつかの癌腫で抗腫瘍効果が報告されている。

そこで今回我々は、uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスによるヒト頭頸部扁平上皮癌株に対する抗腫瘍効果について検討する。

2 対象並びに方法

HNSCC 細胞株 5 株に対して uPA 活性値を測定した。ウイルス投与後の細胞の形態変化を観察し、感染力価ごとの殺細胞効果を検討した。また、uPA 阻害剤を用いて、殺細胞効果への影響を検討した。

臨床的なモデルとして、マウス舌癌同所移植モデル (5 週齢 BALB/c ノードマウスの左舌縁にヒト舌扁平上皮癌細胞株 HSC-3 を 1×10^5 個移植) を作成し、uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスによる抗腫瘍効果、生存期間について検討した。さらに、qRT-PCR により各臓器における GFP mRNA の発現量を定量化し、安全性の検討を行った。

治療ウイルスによる抗腫瘍効果の作用機序を検討するため、同所移植モデルで使用した HSC-3 に対して、ウイルス投与後 72 時間後に 35mm dish で培養した活着細胞を固定し、免疫染色 (TUNEL 染色) を行った。治療ウイルスと汎カスパーゼ阻害剤 Z-VAD-FMK を投与し、殺細胞効果への影響を検討した。

3 成 績

HNSCC 細胞 5 株は uPA 活性を示したが、uPA 活性は細胞株ごとにばらつきを認めた。腫瘍溶解性センダイウイルスにより細胞融合および細胞死が誘導された。uPA 活性が低値であったヒト下咽頭癌細胞株 (FaDu) 以外の HNSCC 細胞株では、殺細胞効果はコントロールウイルスと比較し有意に高く、力価依存的であり、uPA 阻害剤によって抑制された。

舌癌同所移植モデルにおいて治療ウイルスは有意に腫瘍増大を抑制した (HBSS 投与群 $36.1 \pm 14.4 \text{ mm}^3$ 、コントロールウイルス投与群 $36.6 \pm 4.0 \text{ mm}^3$ 、BioKnife 投与群 $18.4 \pm 6.6 \text{ mm}^3$)。また、治療ウイルス群は有意に生存期間を延長した (HBSS 投与群 28.3 ± 2.7 日、コントロールウイルス投与群 35.0 ± 3.7 日、BioKnife 投与群 45.0 ± 6.2 日)。また、血液、肝臓、腎臓における GFP の発現は、投与部位 (舌) の数百分の 1 しか認めておらず、安全性は高いと考えた。

治療ウイルス群では TUNEL 陽性細胞が増加し、汎カスパーゼ阻害剤の投与は治療ウイルスの殺細胞性効果を有意に抑制した。

4 考 察

本研究における uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスは、HNSCC 細胞株に対して高い抗腫瘍効果を示し、生存期間を有意に延長し得た。治療ウイルスの uPA 活性の低い細胞株に対する治療効果が低い理由として、隣接する腫瘍細胞と細胞融合をきたしにくく、細胞死に導く効率が低いためと考えられる。実臨床においては、uPA 活性の低い腫瘍は、転移能が低く、予後がよいとされており既存の治療で十分に対応可能と考える。頭頸部腫瘍は、直接穿刺または内視鏡下穿刺、エコーガイド下穿刺など比較的低侵襲で投与可能であり、本ウイルスは HNSCC に対する新規治療として期待される。

5 結 論

uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスは、その治療効果および安全性から頭頸部扁平上皮癌に対する新しい治療法の選択肢になり得ると考えられる。