





## 学位論文審査の結果の要旨

審査区分 課・ 	第 号	氏 名	秦 陽子
審 査 委 員 会 委 員	主査氏名	白尾 国昭	
	副査氏名	守山 正胤	
	副査氏名	山下 眞一	
<p>論文題目： Efficacy of oncolytic reovirus against human breast cancer cells  論文掲載誌名：Oncology Report  論文要旨：</p> <p>&lt;緒言&gt;レオウイルスはRas活性を伴う癌細胞で特異的に増殖し細胞融解を起こす。近年の研究では乳癌にはras変異は低率であるにもかかわらず、その効果が認められることが報告され、乳癌に対するレオウイルス療法の可能性と、そのメカニズムが注目されている。本研究はRas経路の上流にありRas活性化を導くHER2遺伝子の有無と、レオウイルスの抗腫瘍効果の関係に着目し、乳癌に対するレオウイルス療法の有効性を検討したものである。</p> <p>&lt;材料・方法&gt;6種類のヒト乳癌細胞株とヒト正常乳腺細胞を使用し、ウイルスはReovirus serotype 3を用いた。それぞれの細胞株のHER2発現、Ras活性化の有無、レオウイルスの殺細胞効果、各細胞株へのウイルス感染の有無を検討した。</p> <p>&lt;結果&gt;HER2発現は4つの乳癌細胞株で陽性、活性化Rasはすべての乳癌細胞株で認められた。正常乳腺細胞株ではHER2発現も活性化Rasも認められなかった。HER2の発現の有無にかかわらず全てのヒト乳癌細胞株でレオウイルスによる殺細胞効果を認めたが、正常乳腺細胞株では殺細胞効果を認めなかった。全てのヒト乳癌細胞株でウイルスの感染が確認された。</p> <p>&lt;考察&gt;以上の結果は、レオウイルスが乳癌細胞ではHER2発現の有無にかかわらず、Ras経路の活性を通して複製していることを示唆している。乳癌では高率に活性を認めると考えられており、レオウイルスはHER2陰性乳癌や薬剤耐性乳癌の新しい治療法となりうると考えられた。</p> <p>&lt;結語&gt;レオウイルスはHER2発現の有無にかかわらずRas活性のある乳癌細胞株に対して細胞融解が認められた。多くの乳癌細胞でRas活性が認められると考えられ、乳癌はレオウイルス療法のよい適応になると考えられた。</p> <p>本研究は、レオウイルスによりHER2の発現の有無にかかわらずRas活性のある乳癌細胞株の細胞融解が引き起こされることを初めて明らかにした意義ある研究である。以上、審査委員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

## 学 位 論 文 要 旨

氏名 秦 陽子

## 論 文 題 目

Efficacy of oncolytic reovirus against human breast cancer cells

(ヒト乳癌細胞に対する腫瘍溶解性レオウイルスの有効性の検討)

## 要 旨

(緒言) 乳癌は近年増加の一途をたどっており、その治療法は手術、放射線療法、薬物療法(化学療法、内分泌療法)と多岐にわたっている。最近では乳癌細胞の増殖に重要な役割を果たす HER2 遺伝子をターゲットとした分子標的療法も加わり成果を挙げている。しかしこの HER2 遺伝子を標的とした分子標的療法の対象となる症例(HER2 陽性乳癌)は約 30%に過ぎず、またいずれの薬物療法にも耐性を示す乳癌細胞も存在するため、HER2 陰性症例や薬剤耐性乳癌に対する新しい治療法の開発が求められている。レオウイルスは Ras 活性を伴う癌細胞で特異的に増殖し細胞融解を起こす。近年の研究で乳癌には ras 変異は低率であるにもかかわらず、その効果が認められることが報告され、乳癌に対するレオウイルス療法の可能性と、そのメカニズムが注目されている。

そこで、本研究では Ras 経路の上流にあり Ras 活性化を導く HER2 遺伝子発現の有無と、レオウイルスの抗腫瘍効果の関係に着目し、乳癌に対するレオウイルス療法の有効性を検討した。

(材料) 6種類のヒト乳癌細胞株(SK-BR-3, KPL4, MDA-MB-453, CRL1500, MCF7, MDA-MB-231)とヒト正常乳腺細胞(Hs578Bst)を使用し、ウイルスは Reovirus serotype 3 を用いた。

(方法) (1)各ヒト乳癌細胞株の HER2 発現は RT-PCR、Western blot 法で検出し、Ras 活性化の有無は Ras activation assay によるヒト乳癌細胞株内の活性化 Ras タンパクの測定をした。(2)ヒト細胞株に対するレオウイルスの殺細胞効果は、細胞融解の形態学的観察、および cell count 法で細胞増殖能を測定した。(3)各細胞株へのウイルス感染の有無は  $[^{35}\text{S}]$ -methionine を用いた radio labeling assay により細胞内のウイルス蛋白合成能で確認した。

(結果) (1) HER2 発現は 4 つの乳癌細胞株 (SK-BR-3, KPL4, MDA-MB-453, CRL1500) で陽性、残りの 2 つ (MCF7, MDA-MB-231) は陰性であったが、活性化 Ras は全ての乳癌細胞株で認められた。正常乳腺細胞株では HER2 発現も活性化 Ras も認めなかった。(2)正常乳腺細胞株ではウイルスによる殺細胞効果は認められなかったが、全てのヒト乳癌細胞株でウイルス感染による明らかな細胞融解と細胞増殖抑制を認めた。これは HER2 発現の有無とは無関係であった。(3)ウイルスに感染させたすべての乳癌細胞株でレオウイルスに特異的な蛋白の発現が確認された。

(考察) レオウイルスは ras 変異のある細胞や、Ras 経路に関与する分子の作用で Ras 活性を引き起こした細胞をターゲットにし抗腫瘍効果をもたらすと知られている。今回の研究で HER2 発現の有無にかかわらず、全ての乳癌細胞株にレオウイルスが感染し、正常乳腺細胞株では感染を認めなかった。また今回使用した乳癌細胞株のなかで ras 変異があるのは MDA-MB-231 のみであったが、HER2 発現の有無に関係なく全ての乳癌細胞で Ras 活性を認めた。これらの結果はレオウイルスが今回対象とした乳癌細胞では HER2 発現にかかわらず、Ras 経路の活性を通して複製していることを示唆している。乳癌では ras 変異が低いが高率に Ras 活性を認めるといわれ、レオウイルス治療のよいターゲットになると考えられているが、それを解明するには sos, PI3k, RalGEF のような Ras 活性をもたらすその他の因子について研究する必要がある。今回の結果から、レオウイルスは HER2 陰性乳癌や薬剤耐性乳癌の新しい治療法となりうると考えられた。また乳癌は体表の腫瘍であるためレオウイルスの局所投与も容易である。臨床応用に向け in vivo での抗腫瘍効果の検討が必要である。

(結語) レオウイルスは HER2 発現の有無にかかわらず Ras 活性のある乳癌細胞株に対して細胞融解が認められた。多くの乳癌細胞で Ras 活性が認められると考えられ、乳癌はレオウイルス療法の良い適応になると考えられた。