

論文内容の要旨

Mesenchymal stem cell origin contributes to the antitumor effect of
oncolytic virus carriers

間葉系幹細胞の由来組織が腫瘍溶解性ウイルスキャリア細胞としての機能に
及ぼす影響について

日本医科大学大学院医学研究科 消化器外科学分野

大学院生 助川 誠

Molecular Therapy: Oncology, Volume 32, Issue 4 掲載予定

① 背景・目的

腫瘍溶解性ウイルス（OVs）は、腫瘍組織内で特異的に増殖・拡散し抗腫瘍効果を示すウイルスであり、正常組織への障害性が少ない。しかし、全身投与時の腫瘍への効率的な感染の困難さや、ホストの免疫機能により淘汰されてしまうことなど、乗り越えるべき課題を多く持っている。近年では、キャリア細胞と OVs を組み合わせることでこれらの問題を克服する試みが行われており、特に免疫調節作用や炎症部位へのホーミング作用を持つ間葉系幹細胞（MSCs）が期待されている。MSCs は様々な組織から採取可能であり、その由来となる組織により異なった性質を持つことが知られているが、この性質の差が OVs のキャリア細胞としての性質に与える影響はいまだ明らかではない。本研究では、2次元培養下、3次元培養下それぞれにおいてヒト組織由来 MSCs（hMSCs）とがん細胞との共培養系を確立し、hMSCs の起源が腫瘍溶解性ウイルスのキャリア細胞としての性質にどのような影響を与えるかを検証した。

② 方法

本研究では、hMSCs として骨髄、脂肪、臍帯血、子宮内膜から採取したものを、OVs として腫瘍溶解性ヘルペスウイルス（oHSV）を用いて、hMSCs の OVs キャリアとしての特性を比較した。まず、2次元培養下における hMSCs のがん細胞への遊走能を比較するため、cell culture insert を用いた horizon migration assay、transwell を用いた vertical migration assay を行った。また、3次元培養下での遊走能比較のため、low attachment plate を使用した共培養系を確立し、評価した。次に hMSCs の由来組織ごとの遊走能の差をもたらす要因を調べるため、hMSCs の網羅的遺伝子解析を行った。続いて、各 hMSCs へ oHSV を感染させ、oHSV 感染 hMSCs（oHSV-hMSCs）を作成し、その生存率、oHSV の感染効率、oHSV の放出効率を検証した。最後に、oHSV-hMSCs とがん細胞との共培養系を作成し、oHSV のがん細胞への感染効率、抗腫瘍効果の比較を行った。

③結果

2次元培養、3次元培養のいずれにおいても骨髄由来の MSC（BMMSCs）が他の hMSCs に比べて、がん細胞に対する高い遊走能を示すことが確認された。3次元培養下での遊走能比較実験に使用した hMSCs を回収し網羅的遺伝子解析を行ったところ、細胞遊走性、サイトカインに対する反応性に関わる遺伝子発現に差があることが示された。いずれも BMMSCs で優位に高く発現しており、これらの遺伝子発現が hMSCs のがん細胞への遊走能と密接な関係を持つ可能性が示唆された。続いて、hMSCs の oHSV に対する感受性を検証した。すべての hMSCs は in vitro で oHSV に非常に感受性が高く、48 時間以内に急

速に細胞死を起こしたが、BMMSCs は特に oHSV に対する耐性が低かった。それに対して ADMSCs は oHSV 感染による細胞死に対してやや抵抗性であったことから、hMSCs の由来組織が oHSV に対する感受性に影響を及ぼすことが示唆された。hMSCs を oHSV のキャリア細胞として使用したとき、oHSV-hMSCs は oHSV 単独よりも高いウイルス拡散効率を示した。また、oHSV の PANC-1 細胞に対する抗腫瘍効果においても、oHSV-hMSCs で有意に強化されていた。これらは 2 次元培養下と 3 次元培養下のいずれにおいても同様の結果であった。

④ 結論

我々の研究により、hMSCs は由来組織によって OVs のキャリア細胞として異なる特性を持つことが明らかになり、hMSCs の供給源を適切に選択することの重要性が示唆された。さらに、hMSCs をキャリア細胞として用いることで、OVs の拡散効率、抗腫瘍効果が強化されることが分かった。我々は 3 次元共培養モデルを作成し、より生体内に近い環境で実験を行った。これらの結果は、hMSCs を OV のキャリア細胞として使用することが OV 単独療法の欠点を改善し、OVs に基づく治療をより効果的にする可能性を示唆している。