

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 413号	学位申請者	井手 佳菜子
審査委員	主査	宮田 篤郎	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	西村 正宏	副査 宮田 昌明
	副査	後藤 哲哉	副査 永野 聡

Novel technologies to directly eliminating tumorigenic cells in pluripotent stem cells. (多能性幹細胞における腫瘍化細胞を直接除去する新技術の開発)

ヒト多能性幹細胞(Human pluripotent stem cells: hPSCs)による再生医療は、臨床応用による実用化が期待される重要ツールである。しかし、hPSCs の細胞移植療法における最重要課題は腫瘍化であり、これは自己増殖能や多分化能等 hPSCs の特性によるもので、腫瘍化の完全克服は困難である。この腫瘍化に対応する従来法として、リプログラミング法の改良や安全な hPSCs の使用などが行われてきたが、いずれも「間接的な」腫瘍化抑制による危険性の減少に過ぎない。そこで学位申請者らは、腫瘍化原因細胞を「直接」殺傷・除去する新技術の開発が必須と考え、これを可能とする二つの新たなベクター技術の開発を行った。まず一つは、がん治療薬として独自開発した腫瘍溶解性ウイルス「多因子制御増殖型アデノウイルスベクター(m-CRA)」を hPSCs の腫瘍化抑制に応用する方法である。もう一つは、腫瘍化細胞特異的に可視化・殺傷する新規レンチウイルスベクター (TC-LV) を網羅的に作成・解析できる新技術の開発である。本研究により、以下の知見が明らかにされた。

- 1) 新たに、Survivin (Surv) promoter はがん細胞だけでなく正常の未分化 hPSCs においても高い活性があり、分化 hPSCs では活性が低いことを見出した。Surv または telomerase reverse transcriptase (Tert) promoter でウイルス増殖が制御される Surv.m-CRA と Tert.m-CRA を用い、in vitro での hPSCs の未分化特異的殺傷効果を検証したところ、promoter 活性と一致して Surv.m-CRA は未分化 hPSCs 特異的に殺傷した。さらに未分化 hPSCs 移植による in vivo 腫瘍形成実験系で、Surv.m-CRA 感染 hPSCs は完全に腫瘍形成を抑制した。
- 2) TC-LV 構築の前段階として、複数の蛍光タンパク質・自殺遺伝子を候補とし、計 6 種類の基盤ベクター (pLVA) を作製した。このうち Venus と herpes simplex virus thymidine kinase (HSV-tk) を持つ pLVA に対し、候補となるプロモーターを組み込んだ TC-LV を複数作製出来た。このうち Surv または恒常性プロモーター (CA) をそれぞれ持つ TC-LV.Surv、TC-LV.CA 感染 hPSCs を用いた機能検証では、いずれも未分化細胞で HSV-tk に対応する薬剤である Ganciclovir (GCV) の薬剤濃度依存的に細胞殺傷効果が見られ、分化細胞では傷害がなかった。特に TC-LV.Surv では高濃度の GCV 投与でも毒性がなく、分化細胞への安全性が高いことを実証した。さらに in vivo において、TC-LV 導入細胞移植後に薬剤依存性の腫瘍抑制効果が得られ、特に TC-LV.Surv においては GCV 投与群で腫瘍が見られず、より優れた腫瘍化阻止効果を得た。

本研究は、既存の技術とは異なる hPSCs の腫瘍化原因細胞を直接特異的に殺傷する 2 つの新技術の開発に取り組んだもので、これらについてさらに詳細な解析を進めることで、より優れた腫瘍化阻止技術を発展させることができ、hPSCs による再生医療の臨床応用が大きく進展することが期待される。

よって本研究は、学位論文として十分な価値を有するものと判定した。