



E10A, an adenovirus carrying endostatin gene, dramatically increased the tumor drug concentration of metronomic chemotherapy with low-dose cisplatin in a xenograft mouse model...

ZAINAL, ADHIM

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2012-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5412

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005412>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

E10A, an adenovirus carrying *endostatin* gene, dramatically increased the tumor drug concentration of metronomic chemotherapy with low-dose cisplatin in a xenograft mouse model for head and neck squamous cell carcinoma

E10A (エンドスタチン遺伝子を組み込んだアデノウイルス) による、頭頸部扁平上皮癌移植マウスモデルにおける、低用量シスプラチン・メトロニック療法の腫瘍内薬物濃度の増強効果

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

耳鼻咽喉科頭頸部外科学

(指導教員：丹生健一 教授)

ZAINAL ADHIM

SUMMARY

For almost half a century, systemic therapy for cancer has been dominated by the use of cytotoxic chemotherapeutics. Most of these drugs are DNA-damaging agents or microtubule inhibitors that are designed to inhibit or kill rapidly dividing cells. They are often administered in single doses or short courses of therapy at the highest doses possible without causing life-threatening levels of toxicity, using what is termed the 'maximum tolerated dose' (MTD). MTD therapy includes prolonged breaks (generally of 2–3 weeks in duration) between successive cycles of therapy. However, the progress that has been made in treating certain types of malignancy often comes at a high price, given the toxic side effects frequently, and treatment breaks allow the opportunity for tumor regrowth and acquisition of chemo-resistance. To minimize these drawbacks, a metronomic strategy, in which chemotherapeutics are administered at doses significantly below the MTD without treatment breaks. The antitumor effect of metronomic chemotherapy may be partially due to inhibition of tumor angiogenesis, and it could be enhanced by a combination therapy including antiangiogenic agents.

Angiogenesis plays an important role in the growth, progression, and metastasis of tumors. Inhibiting the angiogenic process or targeting existing tumor vessels can be used for treatment of tumors as an alternative or in parallel with conventional chemotherapy. Endostatin, a 20-kd carboxyl-terminal fragment of type XVIII collagen, inhibits endothelial proliferation, angiogenesis, and tumor growth. Endostatin induces endothelial cell apoptosis and confers survival advantage on cancer patients, but long-term systemic delivery of recombinant protein is expensive, painful experience, and may be insufficient to deliver high concentrations of the therapeutic molecule into the tumor. Antiangiogenic gene therapy can overcome these problems and represents a promising new approach for the treatment of cancer.

Cisplatin, or cis-diamminedichloroplatinum (CDDP), an adduct of platinum, is one of the most potent anticancer drugs in clinical use and shows efficacy against several common types of solid tumors. The cytotoxic effect of cisplatin is thought to be due to its disruptive effect on DNA bases and the resultant DNA damage which induces apoptosis in cancer cells. It plays a major role in the treatment of a variety of cancers, including testicular, bladder, ovarian, head and neck, cervical, lung, and colorectal cancer. Combined treatments using cisplatin with other drugs has shown good results in several studies. In addition, several metronomic chemotherapy regimens with or without antiangiogenic agents are currently under investigation in both pre-clinical and

clinical trials. In the present study, we evaluated the synergistic effect of E10A in conjunction with metronomic chemotherapy of weekly low-dose cisplatin in a xenograft mouse model for head and neck squamous cell carcinoma.

This study using human hypopharyngeal squamous carcinoma cell line (H891) and the recombinant viruses contained the human *endostatin* following an *IL-2 secretable signal*, or *LacZ* genes under the control of the cytomegalovirus immediate early promoter. Real-time PCR showed that in the human *endostatin* gene expression in H891 cells infected with E10A, an adenovirus carrying the human *endostatin* gene, increased in proportion to the concentration of E10A and the time-course at 25 MOI.

The immunohistochemistry clearly demonstrated that endostatin protein was expressed in the H891 cells infected with E10A. Extensive positive staining was observed in the cytoplasm of the E10A infected cells and indicated that E10A may be a candidate for further investigation for local gene therapy in the human hypopharyngeal cancer cell line H891.

To investigate the combined effect of E10A and metronomic low-dose cisplatin, we established the H891 xenograft tumor model in athymic BALB/c (nu/nu) mice (5 weeks old). The result showed, after 4 weeks of treatment, the growth of tumors treated with the combined therapy E10A intratumoral and low doses Cisplatin intraperitoneal, was significantly more inhibited than that treated with either E10A only, cisplatin only, the Ad-*LacZ* control, or the PBS control.

We measured the concentration of platinum in tumor tissues in the combination (E10A+cisplatin), cisplatin only, and PBS control groups. The combination of E10A and low-dose cisplatin significantly increased the intratumoral cisplatin concentration by about 5-fold more than did the cisplatin only treatment.

To determine whether antitumor effect of E10A and metronomic low-dose cisplatin therapy was associated with suppression of angiogenesis, the status of vessel formation in treated H891 xenografts was assessed by immunohistochemistry with endothelial cell-specific CD31 (PECAM) staining. A high density of microvessels was present in the untreated H891 tumors, whereas E10A or metronomic low-dose cisplatin treatment alone was associated with a significant reduction in vascularization. With the combined treatment, a complete suppression of tumor angiogenesis was achieved compared to the E10A only, cisplatin only, and PBS control treatments. Evaluation of tumor cell apoptosis by TUNEL Assay showed that number of

staining-positive cells in the combined (E10A+cisplatin) group was significantly higher than that in the other groups.

To identify any side effects of either low-dose metronomic chemotherapy with cisplatin only, E10A, or the combined therapy, we monitored weight loss and changes in behavior and feeding patterns. In the present study, no serious adverse effects, including weight loss, cachexia, anorexia, behavior change, or toxic death were observed in any treatment group. Furthermore, no pathologic changes in the liver, spleen, or kidney were found via pathologic examination.

Unlike dose-dense chemotherapy, the main targets of which are presumed to be proliferating tumor cells, the main targets of metronomic low-dose chemotherapy are the endothelial cells of the growing vasculature of the tumor. In the present study, cisplatin or E10A alone could reduced the blood vessel density of tumors, however the combined treatment suppressed the tumor angiogenesis significantly more than did treatment with E10A or cisplatin alone. The aberrant structure and function of tumor neovessels result in a microenvironment within solid tumors that is characterized by elevated interstitial fluid pressure, inefficient tumor perfusion, and significant areas of hypoxia and acidosis. These factors contribute to poor intratumoral drug delivery and activity, and, in part, to the development of resistance to cytotoxic therapies. Thus, the inhibitory effect of tumor vascularization of the present combined therapy could improve the intratumoral drug-delivery of cisplatin. It is noteworthy that our plasma-mass spectrometry assay revealed that the combined therapy increased the intratumoral concentration of cisplatin to 5-fold higher than that achieved by the cisplatin only treatment.

Another advantage of metronomic chemotherapy is the possibility of combining it with anti-angiogenic drugs. One of the proposed benefits of combining metronomic chemotherapy with anti-angiogenic therapies is a reduction of side effects and improved quality of life. As it is likely that chemotherapy will continue to be the mainstay of systemic cancer therapy for many years to come, designing more effective ways of administering and combining such drugs with the newest generation of molecularly targeted drugs will become important.

Endostatin gene therapy using E10A, a replication-deficient recombinant adenovirus containing a wild-type of the human *endostatin* gene, could directly express the highly bioactive protein *in vivo* by means of the eukaryotic expression system, and post-translational modification and long-term storage could overcome the need for the cumbersome daily administration of endostatin protein. The antiangiogenic effect of *endostatin*-gene therapy with E10A, and the

direct and indirect antitumor activity of metronomic low-dose cisplatin, offer an additive effect for tumor suppression

The combination of E10A with cisplatin could strongly inhibit the tumor vascularization and consequently increase the intratumoral concentration of cisplatin. Furthermore, we found significantly more apoptotic cells in the combined treatment tumors than in those exposed to the other treatments. Clearly, the inhibition of tumor vascularization should decrease the supply of oxygen and nutrients to tumor cells, as well as decreasing the perfusion and vascular permeability, leading to apoptosis of the tumor cells. Further, each of these putative mechanisms would tend to reinforce the efficacy of cisplatin.

When cisplatin was first approved for commercial use in 1978, the major reported toxicities were severe nausea and vomiting and a high incidence of renal dysfunction. At present, the conventional dosing schedule is designed to balance the toxicity and efficacy, but severe side effects and refractory treatment failures remain obstacles to the administration of this and most other chemotherapies. Thus, novel approaches are definitely required to achieve a high therapeutic response rate and to attenuate the severity of side effects. Further, this pre-clinical study of the combined therapy employing showed no serious general toxicity or specific toxicity evident via histopathological analysis of key organ tissues in the present mouse model. These findings are encouraging for the clinical application of this combined therapy.

In conclusion, our results suggest that the combination of antiangiogenic gene therapy with metronomic low-dose chemotherapy is more effective in suppressing tumor growth in mice than either approach alone, with no evidence of obvious toxicity. The mechanism may variously involve the suppression of tumor angiogenesis, increased intratumoral concentration of chemotherapeutics, and increased induction of apoptosis. The results of this study using the H891, HNSCC tumor model suggest that the combined therapy for the treatment of HNSCC warrants further clinical investigation.

要旨

約半世紀にわたり、癌に対する全身治療は細胞毒性を持つ化学療法剤が中心であった。これら薬剤の多くは細胞分裂を阻害または細胞を死滅させる DNA 損傷剤または微小管阻害剤である。通常、化学療法剤は生命を脅かす毒性が現れないレベルの投与量、いわゆる最大耐量 (MTD) レベルが、単回、もしくは短期の間隔で複数回、投与される。MTD に基づく化学療法は 2~3 週間の投与間隔で行われるのが一般的である。しかし、ある種の癌はしばしば進行性で、高度な副作用により投与間隔が長くなることで、癌が再増殖または薬剤耐性を獲得することがある。これらの欠点を最小限に抑えるために、MTD よりかなりの低用量で間隔を置かず投与するメトロノミック療法が開発された。メトロノミック療法の抗腫瘍効果は血管新生の抑制によるものとされ、抗血管新生剤と併用することで癌の血管新生を抑制し、より高い抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。

血管新生は、腫瘍の成長、進行、および転移において重要な役割を果たしている。血管新生を阻害するもしくは腫瘍血管を標的とする治療法は代替治療または従来の化学療法との併用療法として大きな可能性を有している。18 型コラーゲンの 20 キロダルトンのカルボキシル末端断片であるエンドスタチンは、内皮細胞増殖、血管新生、そして腫瘍の増殖を阻害する。エンドスタチンは血管の内皮細胞のアポトーシスを誘導し癌患者の生存率を改善することが示されているが、組換えタンパク質の長期的投与は、高価で苦痛を伴い、抗腫瘍効果を発揮する濃度の薬剤が腫瘍内に到達しない可能性がある。抗血管新生遺伝子治療は、これらの問題を克服し、癌治療の有望な新しいアプローチとして期待できる。

白金製剤であるシス-ジアンミンジクロロ白金 (シスプラチン; CDDP) は、臨床で最も汎用される抗腫瘍剤の一つであり、ある種の固形癌に対して効果を示す。シスプラチンの細胞毒性効果は、DNA 塩基に対する破壊作用とがん細胞のアポトーシスを誘導する DNA 損傷に起因すると考えられている。シスプラチン治療は、精巣、膀胱、卵巣、頭頸部、子宮頸部、肺、及び大腸を含む多くの癌に対して用いられている。シスプラチンと他の薬剤との併用療法も、多くの臨床研究で良好な結果が得られている。さらに近年、血管新生阻害剤併用の有無にかかわらず、複数のメトロノミック療法の臨床試験が進んでいる。本研究では、頭頸部扁平上皮癌の移植マウスモデルを用いて、毎週、低用量シスプラチンを投与するメトロノミック療法と E10A の相乗効果について検討した。

本研究には、下咽頭扁平上皮癌細胞株 (H891) とサイトメガロウイルス由来のプロモーター下ヒトエンドスタチン遺伝子が組み込まれた組換え型アデノウイルス、E10A を用いた。

リアルタイム PCR により、25 MOI の E10A に感染した H891 細胞がエンドスタチンを発現することを確認した。

免疫組織化学により、E10A に感染した H891 細胞内でエンドスタチンタンパク質を発現されることを確認した。E10A 感染細胞の細胞質では、強い染色像が観察され、下咽頭癌細胞株 H891 における局所的遺伝子治療において E10A が研究の有力な候補であることが示された。

我々は、E10A と低用量シスプラチンを用いたメトロノミック療法の併用効果を調べるために、無胸腺 BALB/C (NU/NU) マウス (5 週齢) の H89I 移植腫瘍モデルを作製した。E10A の腫瘍内投与と低用量シスプラチンの腹腔内投与を毎週、計 4 週間実施した。併用群における腫瘍サイズは、E10A のみ投与群、シスプラチンのみ投与群、Ad-LacZ (コントロール・アデノウirus) 投与群および PBS コントロール群と比較して有意に縮小していた。

E10A +シスプラチン併用群、シスプラチンのみ群、PBS コントロール群の腫瘍組織内の白金濃度を測定した。その結果、E10A と低用量シスプラチンの併用群では、シスプラチンのみ群よりも約 5 倍以上腫瘍内のシスプラチン濃度が増加していた。

E10A とメトロノミック低用量シスプラチンの併用療法の抗腫瘍効果と血管新生抑制との関連を調べるために、内皮細胞に特異的な CD31 (PECAM) を染色する免疫組織化学により、マウスモデル内の移植 H89I 腫瘍の血管形成の状態を調べた。未処理の腫瘍内では高密度の微小血管が観察されたが、E10A のみ群またはシスプラチンのみ群では、血管新生が有意に減少していた。併用群では、腫瘍内の血管新生は完全に抑制されていた。TUNEL アッセイにより腫瘍細胞のアポトーシス誘導を評価したところ、併用療法 (E10A +シスプラチン) では他の両群に比べアポトーシスが優位に高率に誘導されていた。

また、モデルマウスの体重の増減と、行動変化、接触パターンについても、各治療群ごとに観察した。その結果、悪液質による体重減少、食欲不振、行動の変化、または有毒な死亡を含む重篤な副作用は、いずれの治療群でも観察されなかった。さらに、肝臓、脾臓、または腎臓には病理学的変化も観察されなかった。

増殖する癌細胞を標的とする高用量の化学療法とは異なり、メトロノミック療法の主なターゲットは、腫瘍内で新生される血管内皮細胞である。本研究では、シスプラチン単独投与または E10A 単独投与と比較して、E10A とシスプラチンの併用療法は腫瘍血管新生をより強く抑制することを示した。新生血管の異常な構造と機能は結果として、間質圧の上昇、腫瘍内血液還流の不均衡、低酸素やアシドーシスの存在により特徴づけられる固形癌における微小環境を生み出す。これらの要因は、腫瘍内への薬剤の供給と活性を妨げ、場合によっては、細胞障害性薬剤に抵抗性を与える。本研究では、併用療法による腫瘍血管新生の抑制効果により腫瘍内へのシスプラチンの供給を向上させることができた。血漿質量分析アッセイで併用療法によりシスプラチンの腫瘍内濃度が、シスプラチンのみで処置した場合に比べ 5 倍以上増加することは、注目すべき点である。

メトロノミック療法のもう一つの利点は、抗血管新生薬剤と組み合わせることが可能な点である。抗血管新生療法とメトロノミック療法を組み合わせる利点の一つは、副作用の軽減と QOL (生活の質) の改善である。化学療法は今後も癌の全身治療の柱であり続けるので、最新の分子標的薬との組み合わせや投与方法改善が研究されるべきである。

ヒト野生型エンドスタチン遺伝子を導入した非増殖型組み替えアデノウirus である E10A を用いたエンドスタチン遺伝子治療法では、高い生物活性を持つタンパクを癌細胞に直接、と用基幹発現させることができ、エンドスタチンタンパクを連日投与する必要はない。E10A を用いたエンドスタチン遺伝子治療の抗血管新生作用はメトロノミ

ック低用量シスプラチンの直接的および間接的な抗腫瘍活性とともに腫瘍増殖抑制に相乗効果をもたらすと考えられる。

シスプラチンと E10A の組み合わせは腫瘍の血管新生を強力に阻害し、結果的にシスプラチンの腫瘍内濃度を増加する可能性がある。さらに、他の治療群と比較して併用治療を行った腫瘍ではアポトーシス細胞が有意に高い比率で確認された。

腫瘍血管新生の阻害は、腫瘍細胞に酸素や栄養素の供給を減少させるだけでなく、血流と血管透過性を減少させ、腫瘍細胞のアポトーシスを引き起こしている。さらに、これら推定される各メカニズムは、シスプラチンの効果を強化すると考えられる。

シスプラチンが 1978 年に初めて承認された際に報告された主要な毒性は、重度の吐気、嘔吐や腎機能障害の発生である。現時点では、毒性和有効性のバランスをとるよう投与期間、投与量が決められているが、シスプラチンを含む多くの化学療法では、重篤な副作用や治療抵抗性が臨床上の大きな障害になっている。従って、新たなアプローチでは、高い奏効率を達成するために、副作用を軽減させる必要がある。今回の併用療法による研究では、モデルマウスの主要臓器を病理組織学的に検査した結果、重篤な一般的毒性や特異的毒性を認めなかった。これらの知見は、この併用療法の臨床応用の可能性を示唆している。

今回の我々の結果から、メトロノミック療法と抗血管新生遺伝子治療の併用が、それぞれの単独投与と比較して、明らかな毒性なしに、モデルマウスの腫瘍増殖をより効果的に抑制することが期待される。そのメカニズムとしては化学療法剤の腫瘍内濃度の増加、アポトーシス誘導の増強、腫瘍内血管新生の抑制といった様々なメカニズムが挙げられる。頭頸部扁平上皮癌細胞株である H89I の腫瘍モデルを使用した本研究の結果は、頭頸部扁平上皮癌に対するこの新規併用療法が今後、臨床研究の対象となりうることを示唆している。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2233 号	氏 名	Zainal Adhim
論文題目 Title of Dissertation	E10A（エンドスタチン遺伝子を組み込んだアデノウイルス）による、頭頸部扁平上皮癌移植マウスモデルにおける、低用量シスプラチン・メトロノミック療法の腫瘍内薬物濃度の増強効果 E10A, an adenovirus carrying <i>endostatin</i> gene, dramatically increased the tumor drug concentration of metronomic chemotherapy with low-dose cisplatin in a xenograft mouse model for head and neck squamous cell carcinoma.		
審査委員 Examiner	主 査 南 博 信 Chief Examiner 副 査 佐々木 良平 Vice-examiner 副 査 市 森 孝 英 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

癌に対する全身治療は細胞毒性を持つ化学療法剤が中心で、これらの多くは細胞分裂を阻害または細胞を死滅させる DNA 損傷薬または微小管阻害薬である。通常、化学療法剤はいわゆる最大耐量 (MTD) レベルが、単回、もしくは短期の間隔で複数回、2-3 週間の投与される。しかし、副作用により投与を延期すると癌が再増殖または薬剤耐性を獲得することがある。これらの欠点を最小限に抑えるために、MTD よりかなり低用量で間隔を置かず投与するメトロノミック療法が開発された。メトロノミック療法の抗腫瘍効果は血管新生の抑制によるものとされ、抗血管新生薬と併用することで、より高い抗腫瘍効果を発揮すると考えられる。

血管新生は、腫瘍の成長、進行、および転移において重要な役割を果たす。血管新生を阻害したり腫瘍血管を標的とする治療法は代替治療として、または従来の化学療法との併用療法として大きな可能性を有する。18 型コラーゲンの 20 キロダルトンのカルボキシル末端断片であるエンドスタチンは、内皮細胞増殖、血管新生、さらに腫瘍の増殖を阻害する。エンドスタチンは血管内皮細胞のアポトーシスを誘導し癌患者の生存率を改善することが示されているが、組換えタンパク質の長期的投与は高価で、また、抗腫瘍効果を発揮する濃度の薬物が腫瘍内に到達しない可能性がある。抗血管新生遺伝子治療はこれらの問題を克服し癌治療の有望な新しいアプローチとして期待できる。

白金製剤であるシス-ジアンミンジクロロ白金（シスプラチン；CDDP）は、臨床で最も汎用される抗腫瘍薬の一つであり、固形癌に対して効果を示す。シスプラチンの細胞毒性効果はがん細胞のアポトーシスを誘導する DNA 損傷に起因すると考えられている。シスプラチン治療は、精巣、膀胱、卵巣、頭頸部、子宮頸部、及び肺を含む多くの癌に対して用いられている。シスプラチンと他の薬剤との併用療法も、多くの臨床研究で良好な結果が得られている。さらに近年、血管新生阻害剤併用の有無にかかわらず、複数のメトロノミック療法の臨床試験が進んでいる。本研究では、頭頸部扁平上皮癌の移植マウスモデルを用いて、毎週、低用量シスプラチンを投与するメトロノミック療法と E10A の相乗効果について検討した。

本研究には、下咽頭扁平上皮癌細胞株 (H891) とサイトメガロウイルス由来のプロモーター下にヒトエンドスタチン遺伝子が組み込まれた組換え型アデノウイルス、E10A を用いた。

リアルタイム PCR により、25 MOI の E10A に感染した H891 細胞がエンドスタチンを発現することを確認し、さらに免疫組織化学により E10A に感染した H891 細胞内でエンドスタチンタンパク質を発現することを確認した。E10A 感染細胞の細胞質では、強い染色像が観察され、下咽頭癌細胞株 H891 における局所的遺伝子治療において E10A が研究の有力な候補であることが示された。

E10A と低用量シスプラチンを用いたメトロノミック療法の併用効果を調べるために、無胸腺 BALB/C (NU/NU) マウス (5 週齢) の H891 移植腫瘍モデルを作製し、E10A の腫瘍内投与と低用量シスプラチンの腹腔内投与を週 1 回、計 4 回実施した。併用群における腫瘍サイズは、E10A のみの投与群、シスプラチンのみの投与群、Ad-LacZ (コントロール・アデノウイルス) 投与群および PBS コントロール群と比較して有意に縮小していた。

E10A+シスプラチン併用群、シスプラチンのみの群、PBS コントロール群の腫瘍組織内の白金濃度を測定したところ、E10A と低用量シスプラチンの併用群では、シスプラチンのみの群よりも約5倍以上腫瘍内の白金濃度が増加していた。

E10A とメトロノミック低用量シスプラチンの併用療法の抗腫瘍効果と血管新生抑制との関連を調べるために、内皮細胞に特異的なCD31 (PECAM) を染色する免疫組織化学により、マウスモデル内の移植 H891 腫瘍の血管形成の状態を調べた。未処理の腫瘍内では高密度の微小血管が観察されたが、E10A のみの群またはシスプラチンのみの群では、血管新生が有意に減少していた。併用群では、腫瘍内の血管新生は完全に抑制されていた。TUNEL アッセイにより腫瘍細胞のアポトーシス誘導を評価したところ、併用療法 (E10A+シスプラチン) では他の両群に比べアポトーシスが優位に高率に誘導されていた。

また、モデルマウスの体重の増減と、行動変化、接触パターンを評価したところ、悪液質による体重減少、食欲不振、行動の変化、または有毒な死亡を含む重篤な副作用は、いずれの治療群でも観察されず、肝臓、脾臓、または腎臓には病理学的変化も観察されなかった。

メトロノミック療法の主なターゲットは、腫瘍内の新生血管内皮細胞である。本研究では、シスプラチン単独投与または E10A 単独投与に比較して、E10A とシスプラチンの併用療法は腫瘍血管新生をより強く抑制することを示した。新生血管の異常な構造と機能は、間質圧の上昇、腫瘍内血液還流の不均衡、低酸素やアシドーシスを引き起こし、薬剤耐性の原因となる。本研究では、併用療法により腫瘍内のシスプラチン濃度を向上させることができた。

ヒト野生型エンドスタチン遺伝子を導入した非増殖型組み替えアデノウイルスである E10A を用いたエンドスタチン遺伝子治療法では、高い生物活性を持つタンパクを癌細胞に直接発現させることができ、エンドスタチンタンパクを連日投与する必要はない。腫瘍血管新生阻害は、腫瘍細胞に酸素や栄養素の供給を減少させるだけでなく、血流と血管透過性を減少させ、腫瘍細胞のアポトーシスを引き起こし、シスプラチンの効果を増強すると考えられる。

今回の結果から、メトロノミック療法と抗血管新生遺伝子治療の併用が、それぞれの単独投与に比較して、明らかな毒性増強なしに、モデルマウスの腫瘍増殖をより効果的に抑制することが期待される。そのメカニズムとしては化学療法薬の腫瘍内濃度の増加、アポトーシス誘導の増強、腫瘍内血管新生の抑制といった様々なメカニズムが挙げられる。頭頸部扁平上皮癌細胞株である H891 の腫瘍モデルを使用した本研究の結果は、頭頸部扁平上皮癌に対するこの新規併用療法が今後、臨床研究の対象となりうることを示唆している。

本研究は血管新生阻害を薬物ではなくウイルスによる遺伝子導入で行い、低用量シスプラチンとの併用効果を検討したものであり、遠隔転移をよりも局所のコントロールが困難となる頭頸部癌の治療法を改善しようとしたものである。血管新生阻害を薬物ではなくウイルスによる遺伝子導入で行った点に意義がある。頭頸部癌治療に貢献しうる重要な知見を得たものとして価値ある業績であると認める。よって、本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。