

令和元年9月4日現在

機関番号：82406

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15726

研究課題名(和文)腫瘍溶解ウイルス療法に伴う免疫誘導による抗腫瘍効果の検討

研究課題名(英文)Oncolytic Sendai Virus-induced tumor-specific immunoresponse suppresses metastasis in animal model

研究代表者

塩谷 彰浩 (Shiotani, Akihiro)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・耳鼻咽喉科学・教授)

研究者番号：80215946

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、我々が以前より注目し検討してきた腫瘍溶解性センダイウイルスを用いた、頭頸部癌の転移巣に対する新規治療法の可能性を検討した。正常免疫を有するマウスの頭頸部扁平上皮癌擬似転移モデルを作成し、腫瘍特異的免疫誘導を期待して、腫瘍溶解性センダイウイルスを原発巣に投与したところ、全身性に腫瘍特異的免疫が誘導され、擬似転移巣を抑制した。この結果により、腫瘍溶解性センダイウイルスによる頭頸部癌遠隔転移を標的とした治療が可能であることが示唆された。腫瘍溶解性センダイウイルス療法は、頭頸部癌治療の低侵襲化を実現し、患者のQOL向上・予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、腫瘍溶解性センダイウイルスを原発巣に投与することにより、原発巣に対する治療効果に加え、腫瘍溶解性センダイウイルスが頸部リンパ節転移や遠隔転移を抑制する可能性を模索した。特にリンパ節の転移を標的とした治療や遠隔転移を標的とした治療が実現できれば、転移巣の縮小効果や予防効果だけでなく、導入化学療法や手術、(化学)放射線療法などとの併用により転移制御の相加・相乗効果が期待できる。原発巣に対する低侵襲手術と腫瘍溶解性センダイウイルス療法を組み合わせることで、治療の低侵襲化による患者のQOL向上のみならず、頭頸部癌の予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考えている。

研究成果の概要(英文)：The objectives of this study are to 1. analyze anti-metastatic effect and 2. demonstrate systemic tumor-specific immunoresponses after administration of oncolytic Sendai virus. We established simulated metastasis model of head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) using immunocompetent mice. Simulated metastasis lesion was significantly smaller in oncolytic Sendai virus group than that in control groups ($p < 0.05$). CTL activities were significantly improved in oncolytic Sendai virus group ($p < 0.05$). Flow cytometric analysis revealed that inductions of CD4+, CD8+ and dendritic cells were significantly higher in oncolytic Sendai virus group ($p < 0.05$). Tumor-specific systemic immunoresponse after oncolytic Sendai virus therapy suppressed metastasis. This strategy has a potential to be a novel safe and less invasive option for control and prevention of metastasis of HNSCC.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：頭頸部癌 転移 腫瘍溶解性ウイルス療法 センダイウイルス 腫瘍免疫 樹状細胞 細胞障害性T細胞

1. 研究開始当初の背景

頭頸部扁平上皮癌は全世界で7番目に多い癌であり、近年の化学療法、放射線療法および手術療法の集学的治療による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、いまだ5年生存率が50-60%と予後不良な疾患である。頭頸部癌の予後を左右する因子として、原発巣の進展度・深達度や頸部リンパ節転移の有無、癌の細胞学的・組織学的分化度、遠隔転移の有無など様々挙げられるが、その中でもリンパ節転移や遠隔転移は頭頸部癌患者の重要な予後因子であり、頭頸部扁平上皮癌における転移巣の制御は喫緊の課題である。

我々は、腫瘍溶解性センダイウイルスを原発巣に投与することにより、原発巣に対する治療効果に加え、腫瘍溶解性センダイウイルスが腫瘍特異的免疫を誘導し、転移巣を抑制する可能性を模索した。特に、リンパ節転移や遠隔転移を標的とした治療が実現できれば、転移巣の抑制効果や予防効果だけでなく、導入化学療法や手術、(化学)放射線療法などとの併用により転移巣制御の相加・相乗効果が期待できる。また、原発巣に対する低侵襲手術と腫瘍溶解性センダイウイルス療法を組み合わせることで、治療の低侵襲化による患者のQOL向上のみならず、頭頸部癌の予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考え、研究を開始した。

2. 研究の目的

本研究では、uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルス (BioKnife) が頭頸部扁平上皮癌の原発巣に対して治療効果を発揮するだけでなく、理論上 BioKnife の殺細胞効果で誘導された腫瘍免疫による治療効果も期待できるので、転移巣を標的とした新規治療の開発を目的として、頭頸部扁平上皮癌擬似転移マウスモデルにおける BioKnife の腫瘍免疫誘導による転移巣抑制効果に関して検討を行う。

3. 研究の方法

正常免疫を有する C3H/HeN マウス由来の頭頸部扁平上皮癌細胞株 (SCCVII) を使用した。治療ウイルスとして、uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルス BioKnife、およびコントロールウイルス (F 蛋白遺伝子に変異を加えていない M 蛋白遺伝子欠損センダイウイルス rSeV/dM) を用いた。いずれもレポーター遺伝子として Green fluorescent protein (GFP) 遺伝子をコードしている。頭頸部擬似転移に対する BioKnife の治療効果を検討するため、in vitro と in vivo の実験に分けて行った。in vitro の実験では、様々な扁平上皮癌細胞株の uPA 活性測定や SCCVII に対するウイルスの殺細胞効果および経時的観察を行った。in vivo 実験では、in vitro 実験の結果を元に頭頸部癌擬似転移マウスモデルを確立し、擬似転移巣に対する BioKnife の抗腫瘍効果やそのメカニズムについて検討した。

4. 研究成果

in vitro 実験において、uPA 活性は SCCVII が他の SCC 細胞株と比較し一番 uPA 活性が低かったが、BioKnife 連続投与により力価依存的に有意な殺細胞効果を示し、経時的観察で細胞膜融合・細胞死の誘導を確認した。また、in vivo 実験において、頭頸部扁平上皮癌擬似転移マウスモデルで、BioKnife を原発巣に注入することにより、擬似転移巣の抑制効果を認めた。細胞傷害性 T 細胞アッセイでは BioKnife 投与群で有意にエフェクター細胞が SCCVII に対する殺細胞効果を示した。脾臓におけるフローサイトメトリー解析では、ウイルス投与による免疫担当細胞の誘導を認め、免疫組織化学的染色で擬似転移巣内の CD8 細胞浸潤を確認した。

本研究により、BioKnife は原発巣に対する治療効果のみならず、腫瘍免疫誘導による転移巣を標的とした治療も可能であることが示唆された。

進行期の頭頸部癌患者に対しては、BioKnife をがん化学療法や分子標的薬、免疫チェックポイント阻害薬やがんワクチンを含めた免疫療法と併用することにより、それぞれ抗腫瘍メカニズムが異なるため、生存期間の延長を期待することができる。また、BioKnife に免疫刺激因子を搭載することによって、より強力な抗腫瘍免疫を誘導することも期待される。

BioKnife による腫瘍溶解性ウイルス療法は、頭頸部癌治療の低侵襲化を実現し、患者の QOL 向上のみならず、予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考えている。本研究は、臨床応用が容易な手法を用いており、ウイルスベクターの安全性も高いことから、BioKnife の臨床応用が期待され、新たな頭頸部癌低侵襲治療の礎となると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Tanaka N, Araki K, Mizokami D, Miyagawa Y, Yamashita T, Tomifuji M, Ueda Y, Inoue M, Matsushita K, Nomura F, Shimada H, Shiotani A. Sendai virus-mediated gene transfer of the c-myc suppressor far-upstream element-binding protein-interacting repressor

suppresses head and neck cancer. *Gene Therapy*. 2015;22:297-304.

田中 伸吾、富藤 雅之、荒木 幸仁、塩谷 彰浩 . Head and Neck Tumor 頭頸部腫瘍 局所進行喉頭・下咽頭癌における喉頭温存 局所進行喉頭・下咽頭癌に対する経口的切除術の位置付け . 癌と化学療法 . 2017;44:569-574.

Tanaka Y, Araki K, Tanaka S, Miyagawa Y, Suzuki H, Kamide D, Tomifuji M, Uno K, Harada E, Yamashita T, Ueda Y, Inoue M, Shiotani A. Oncolytic Sendai virus-induced tumor-specific immunoresponses suppress "simulated metastasis" of squamous cell carcinoma in an immunocompetent mouse model. *Head Neck*. 2019. doi: 10.1002/hed.25642. [Epub ahead of print]

Miyagawa Y, Araki K, Yamashita T, Tanaka S, Tanaka Y, Tomifuji M, Ueda Y, Yonemitsu Y, Shimada H, Shiotani A. Induction of cell fusion/apoptosis in anaplastic thyroid carcinoma in orthotopic mouse model by urokinase specific oncolytic Sendai virus. *Head Neck*. 2019. doi: 10.1002/hed.25769. [Epub ahead of print]

〔学会発表〕(計 6 件)

Tanaka Y, Araki K, Tanaka S, Miyagawa Y, Suzuki H, Kamide D, Yamashita T, Tomifuji M, Ueda Y, Inoue M, Shiotani A. Feasibility of Recombinant Sendai Virus Mediated Sentinel Lymph Node Targeted Gene Transfer in an Orthotopic Nude Mouse Model of Head & Neck Squamous Cell Carcinoma. 9th International Conference on Head and Neck Cancer (国際学会) . 2016 年.

Tanaka Y, Araki K, Tanaka S, Ueda Y, Inoue M, Shiotani A. Immunoresponse by Oncolytic Virus Suppresses Metastasis. American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery Annual meeting 2017 (国際学会) . 2017 年.

Tanaka S, Araki K, Yamashita T, Tanaka Y, Ueda Y, Shiotani A. Oncolytic Sendai Virus Therapy for Head and Neck Cancer. American Academy of Otolaryngology – Head and Neck Surgery Annual meeting 2017 (国際学会) . 2017 年.

Tanaka Y, Araki K, Tanaka S, Miyagawa Y, Suzuki H, Kamide D, Tomifuji M, Uno K, Harada E, Yamashita T, Ueda Y, Inoue M, Shiotani A. Sentinel Lymph Node Targeted Therapy by Oncolytic Sendai Virus Suppresses Micrometastasis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in an Orthotopic Nude Mouse Model. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2018 (国際学会) . 2018 年.

Tanaka Y, Araki K, Tanaka S, Miyagawa Y, Suzuki H, Kamide D, Tomifuji M, Uno K, Harada E, Yamashita T, Ueda Y, Inoue M, Shiotani A. Migration of Oncolytic Sendai Virus into Sentinel Lymph Node and Suppression of Lymph Node Metastasis by its Metastasis-specific Infection in an Orthotopic Nude Mouse Model of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. International Sentinel Node Society Biennial Meeting (国際学会) . 2018 年.

田中雄也、荒木幸仁、田中伸吾、宮川義弘、鈴木洋、上出大介、富藤雅之、宇野光佑、原田栄子、山下拓、上田泰次、井上誠、塩谷彰浩 . 腫瘍溶解性センダイウイルス原発巣治療後の腫瘍免疫誘導による頭頸部癌遠隔転移抑制効果の検討 . 第 70 回日本気管食道科学会総会ならびに学術講演会 . 2018 年 .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :

種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塩谷彰浩 (Shiotani Akihiro)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院)、耳鼻咽喉科学、教授

研究者番号：80215946

(2) 研究分担者

荒木幸仁 (Araki Koji)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院)、耳鼻咽喉科学、准教授

研究者番号：70317220

富藤雅之 (Tomifuji Masayuki)

防衛医科大学校(医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院)、耳鼻咽喉科学、講師

研究者番号：80327626