

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04315

研究課題名(和文) 骨軟部肉腫への腫瘍溶解・免疫誘導・癌幹細胞制圧の革新的な遺伝子ウイルス治療の開発

研究課題名(英文) Development of Innovative Gene-Virus Therapy for Tumor Lysis, Immunity Induction, and Cancer Stem Cell Suppression in Bone and Soft Tissue Sarcoma.

研究代表者

小賤 健一郎 (Kosai, Ken-ichiro)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：90258418

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,100,000円

研究成果の概要(和文)：各種の治療遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAを作製し、それぞれについて、in vitroでの発現ならびに種々の機能解析(腫瘍溶解作用、全身性抗腫瘍免疫誘導、その他)を行った。これらの実験により、それぞれの新規Surv.m-CRAの治療遺伝子の発現と機能の確証、そしてその治療特性を確証した。さらにin vivo動物モデルでの治療実験にも、複数の新規Surv.m-CRAについて治療実験を行い、治療効果についても確認した。このように、それぞれの新規Surv.m-CRA-1の治療特性、そして有用性の実証データも、随時得てきた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的意義は、独自開発のm-CRA癌治療薬に、自身らが同定した治療遺伝子と発現システムを組み込む技術自体が、研究代表者のみ可能という優位性を持つ。さらに、腫瘍溶解性ウイルスに複数の遺伝子や制御ユニットなどの仕組みを導入し、革新的治療作用で劇的相乗的な癌治療薬効果を誘導する点で、科学的独創先駆性も持つ。社会的意義は、独自技術開発が乏しい本邦で遅れている本分野の科学研究の発展に貢献する。医師主導治験までの実績を持つ基盤からの発展研究のため、目標の骨軟部肉腫の革新的な医薬開発の研究成果が期待できる。長期的には「本邦発の革新医薬の創出」により国民福祉や経済の向上という大きな波及効果も期待できる。

研究成果の概要(英文)：We generated novel Surv.m-CRA expressing various therapeutic genes and analyzed their in vitro expression and various functions (tumor lysis, systemic anti-tumor immunity induction, etc.). These experiments first confirmed the expression and function of the therapeutic genes in each of the novel Surv. m-CRA and then largely confirmed their therapeutic properties. In addition, we conducted treatment experiments on several novel Surv. m-CRA in in vivo animal models to confirm their therapeutic efficacy. Thus, therapeutic properties of each new Surv. m-CRA-1 as well as experimental data on its usefulness, have been obtained from time to time.

研究分野：遺伝子治療学

キーワード：癌 ウイルス 遺伝子 免疫学

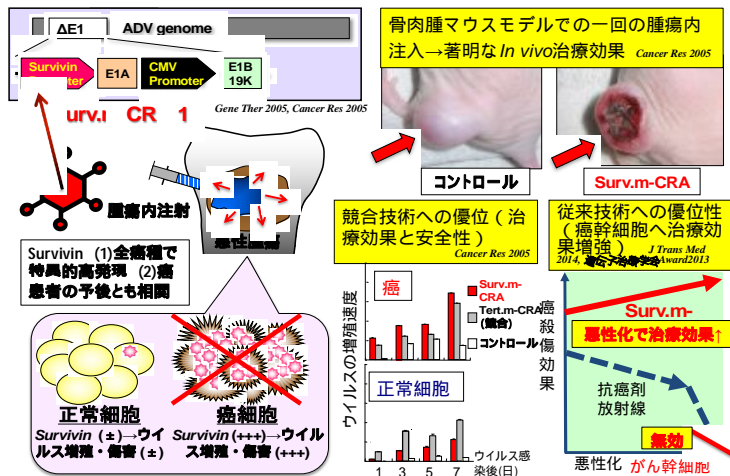
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

国内外の研究動向

- 海外の状況： 遺伝子改変で腫瘍選択的なウイルス増殖・殺傷作用を誘導する腫瘍溶解性ウイルス(OV)は、海外の臨床試験での著明な効果、さらにAmgen社のT-Vec (サイトカイン搭載) の昨年末の欧米でのFirst-in-class医薬 (新原理の医薬) の承認で、世界的には分野「全体」が革新的な癌治療医薬の最有力候補の一つと期待されている。
- 本邦の状況： 本邦の遺伝子治療全体の臨床プロトコル数は世界の僅か1%で、しかも独自開発の技術 (特許) が乏しいため、海外輸入の (近年問題となっている) 臨床研究がほとんどである。一方、研究代表者は従来・競合技術を凌駕するm-CRA 技術 / Surv.m-CRA医薬を独自開発し、First-in-human (患者に世界初投与) のICH-GCP (世界標準の薬事法での実用化へ) 医師主導治験を骨軟部肉腫へ自学で開始している。
- 治験実施中の Surv.m-CRA-1 は治療遺伝子は未搭載で、増幅ウイルスの腫瘍溶解作用のみだが、動物実験で強力な治療効果を示している。本研究ではさらに、免疫遺伝子治療研究で同定したサイトカイン、その他の、劇的な癌免疫誘導の候補遺伝子、癌幹細胞に治療効果を示す遺伝子等を Surv.m-CRA に搭載する。作製した治療遺伝子搭載の m-CRA の治療効果・機序を解析し、骨軟部肉腫根治の革新的な遺伝子ウイルス治療法を開発する。

図1. Surv.m-CRA-1の特性 (治療作用・効果、優位性)



2. 研究の目的

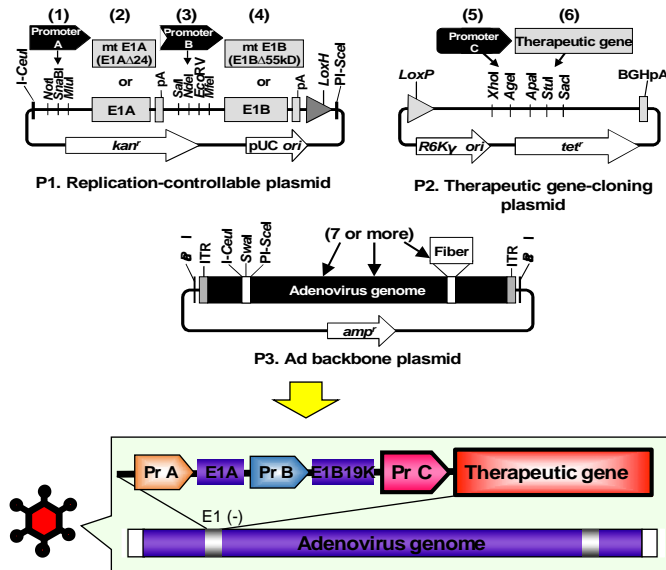
遺伝子ウイルス治療の m-CRA ベクターを独自開発し、第一弾の Surv.m-CRA 医薬は骨軟部肉腫患者へ First-in-human の医師主導治験を実施中である。本研究では骨軟部肉腫の根治を目指し、癌 (肉腫) 幹細胞の悪性化除去遺伝子、免疫誘導遺伝子を搭載した m-CRA 医薬を開発し、腫瘍溶解・免疫誘導・癌幹細胞制圧の革新的な遺伝子ウイルス治療法を開発する。

3. 研究の方法

各種の治療遺伝子や発現制御プロモーターを搭載した新規 Surv.m-CRA を作製する。これらの *in vitro* での機能解析、癌動物モデルにて *in vivo* 治療実験で効果検証を行い、革新的な遺伝子ウイルス治療法の開発 (科学的実証) を行う。

(1) 各種の治療遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAの作製と調整

独自開発の3プラスミドシステムの m-CRA 作製技術で、各種の治療遺伝子を搭載する新規の Surv.m-CRA を作製・調整する。



(2) 作製・調整した新規Surv.m-CRAのin vitroでの機能解析

(1)で作製・調整したウイルスを用いて機能解析実験をin vitroで行う。

新規Surv.m-CRAのOVとしての基本特性解析。

全身性の抗腫瘍免疫誘導：各Surv.m-CRAが目的の遺伝子を発現しているか、その発現量や調整は効いているか、骨癌細胞株と正常細胞に感染させ、発現量を調べる。

機能解析：それぞれの治療遺伝子の特性に応じた機能解析を行う。

in vivo 動物モデルでの治療効果と解析の実験：独自に確立したハムスター癌細胞株の同種移植のSyngenic腫瘍モデルで、治療効果の評価とメカニズム解析を行う。

4. 研究成果

我々は、遺伝子ウイルス治療のm-CRAベクターを独自開発し、第一弾のSurv.m-CRA医薬は骨軟部肉腫患者へのFirst-in-humanの医師主導治験を実施中である。本研究は、骨軟部肉腫の根治に近づく革新的な治療法の開発を、目指すことである。そのため具体的には、癌(肉腫)幹細胞の悪性化除去遺伝子、免疫誘導遺伝子を搭載したm-CRA医薬を開発し、腫瘍溶解・免疫誘導・癌幹細胞制圧の革新的な遺伝子ウイルス治療法を開発することである。本課題研究成果としては、以下である。

- (1) 各種の治療遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAを作製し、それぞれについて、in vitroでの発現ならびに種々の機能解析(腫瘍溶解作用、全身性抗腫瘍免疫誘導、その他)を行った。これらの実験により、それぞれの新規Surv.m-CRAの治療遺伝子の発現と機能の確証、そしてその治療特性を確証した。
- (2) in vivo動物モデルでの治療実験にも、複数の新規Surv.m-CRAについて治療実験を行い、治療効果についても確認した。また新規Surv.m-CRAについては、その治療効果のメカニズムの解析も行なった。これらに関しては、ヒトアデノウイルスがヒト細胞以外ではハムスターでしか増殖できないということから、ハムスター細胞の移植によるシンジェニックハムスターモデルを自身のラボで開発し、治療や解析実験を行った。
- (3) 癌幹細胞も含む治療効果の解析、免疫誘導能についても、複数の新規Surv.m-CRAで比較実験を行ってきた。
- (4) それぞれの新規Surv.m-CRA-1の治療特性、そして有用性の実証データも、随時得てきた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Suzuki Shinsuke, Kofune Hiroki, Uozumi Kimiharu, Yoshimitsu Makoto, Arima Naomichi, Ishitsuka Kenji, Ueno Shin-ichi, Kosai Ken-ichiro	4. 巻 19
2. 論文標題 A survivin-responsive conditionally replicating adenovirus induces potent cytotoxic effects in adult T-cell leukemia/lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 516
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12885-019-5730-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ide K, Mitsui K, Irie R, Matsushita Y, Ijichi N, Toyodome S, Kosai K	4. 巻 36
2. 論文標題 A Novel Construction of Lentiviral Vectors for Eliminating Tumorigenic Cells from Pluripotent Stem Cell.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 230-239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/stem.2725	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kida H, Takahashi T, Nakamura Y, Kinoshita T, Hara M, Okamoto M, Okayama S, Nakamura K, Kosai K, Taniwaki T, Yamashita Y, Matsuishi T	4. 巻 7
2. 論文標題 Pathogenesis of Lethal Aspiration Pneumonia in Mecp2-null Mouse Model for Rett Syndrome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-017-12293-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計28件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 完全オリジナルの次世代「腫瘍溶解性ウイルス・免疫遺伝子治療」の実用化を目指した非臨床開発とFirst-in-human医師主導治験
3. 学会等名 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成30年度成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小戩健一郎
2. 発表標題 南九州先端医療開発センターの概要と研究推進プロジェクト
3. 学会等名 南九州先端医療開発センター キックオフシンポジウム「本学発の革新的医療シーズの実用化を目指して」
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田恵理子、三井薫、井手佳菜子、小戩健一郎
2. 発表標題 多能性幹細胞における目的細胞単離の独自ベクター技術の開発
3. 学会等名 第12回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井手佳菜子、豊留宗一郎、三井薫、松田恵理子、小戩健一郎
2. 発表標題 多能生幹細胞の腫瘍化完全克服を目指した「ゲノム編集での自殺遺伝子挿入技術」の開発
3. 学会等名 第18回日本再生医療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ide Kanako, Mitsui Kaoru, Kosai Ken-ichiro
2. 発表標題 A novel construction of lentiviral vectors that identify and eliminate tumorigenic cells from pluripotent stem cells
3. 学会等名 Internatinal Society for Stem Cell Research (ISSCR 2018 Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名	S.Nagano, T.Futagawa, E.Sumii, N.Ijichi, M.Yamaguchi, M.Nakajo, T.hashiguchi, Y.Takeda, T.Yoshiura, A.Shimizu, M.Takatani, S.Komiya, K-i.Kosai
2. 発表標題	Phase I Study of Potentially "Best-in-Class" Survivin-Responsive Conditionally Replicating Adenovirus for Advanced Sarcoma Actually Demonstrates Potent and Long-Term Efficacy and High Safety
3. 学会等名	American Association for Cancer Research(AACR Annual Meeting) (国際学会)
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	小賤健一郎
2. 発表標題	難病やがん等の疾患から再び健康を取り戻す技術開発
3. 学会等名	2019 World Alliance Forum in Awaji (ITあわじ会議)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名	小賤健一郎
2. 発表標題	独自開発の腫瘍溶解性ウイルスSurv.m-CRAのFirst-in-human医師主導治験と実用化の展望
3. 学会等名	第60回日本小児血液・がん学会学術集会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名	Ken-ichiro Kosai, Satoshi Nagano, Nobuhiro Ijichi, Toshitaka Futagawa, Eriko Sumi, Munekazu Yamaguchi, Masanori Nakajo, Teruto Hashiguchi, Yasuo Takeda, Takashi Yoshiura, Akira Shimizu, Muneo Takatani, Setsuro Komiya
2. 発表標題	Development of next-generation oncolytic viro-immuno-therapy and investigator-initiated first-in-human clinical trial
3. 学会等名	第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年	2018年

1. 発表者名 井手佳菜子、三井薫、松田恵理子、小賤健一郎
2. 発表標題 多能性幹細胞での再生医療に必須となる腫瘍化克服の独自技術の開発
3. 学会等名 第3回日本遺伝子細胞治療学会若手研究会セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松田恵理子、三井薫、井手佳菜子、小賤健一郎
2. 発表標題 多能性幹細胞での再生医療のための目的細胞単離の独自ベクター技術の開発
3. 学会等名 第24回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 永野聡、小賤健一郎
2. 発表標題 サバイビン反応性増殖型アデノウイルスの骨軟部肉腫へのFirst-in-human医師主導治験
3. 学会等名 第24回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 南九州先端医療開発センターの概要と研究推進プロジェクト
3. 学会等名 南九州先端医療開発センター キックオフシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小戥健一郎
2. 発表標題 腫瘍溶解性ウイルス・免疫遺伝子治療」の実用化を目指した非臨床開発とFirst-in-human医師主導治験
3. 学会等名 国立研究開発法人 日本医療研究開発機構 革新的医療技術創出拠点プロジェクト 平成30年度成果報告会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken-ichiro Kosai, Satoshi Nagano, Toshitaka Futagawa, Eriko Sumi, Nobuhiro Ijichi, Munekazu Yamaguchi, Masanori Nakajo, Teruto Hashiguchi, Yasuo Takeda, Takashi Yoshiura, Akira Shimizu, Muneo Takatani, Setsuro Komiya
2. 発表標題 Phase I Study of Potentially "Best-in-Class" Survivin-Responsive Conditionally Replicating Adenovirus for Advanced Sarcoma Actually Demonstrates Potent and Long-Term Efficacy and High Safety .
3. 学会等名 AMERICAN SOCIETY of GENE & CELL THERAPY (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 井手佳菜子、三井薫、入江理恵、松下洋平、伊地知暢広、豊留宗一郎、松田恵理子、富山好美、前原静香、小戥健一郎
2. 発表標題 レンチウイルスベクターを用いたヒト多能性幹細胞の腫瘍化阻止技術（遺伝子構築の網羅解析技術）の開発
3. 学会等名 第11回桜ヶ丘地区基礎系研究発表会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三井薫、井手佳菜子、豊留宗一郎、小戥健一郎
2. 発表標題 多能性幹細胞由来腫瘍を直接殺傷除去する革新的なウイルスベクター技術の開発
3. 学会等名 第35回日本ヒト細胞学会学術集会in種子島
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kaoru Mitsui, Kanako Ide, Ken-ichiro Kosai
2. 発表標題 Viral vector-based innovative approaches to directly abolishing tumorigenic cells: Novel technologies for safer clinical application of pluripotent stem cell-based regenerative medicine.
3. 学会等名 第23回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ken-ichiro Kosai
2. 発表標題 The first-in-human investigator-initiated ICH-GCP clinical trial of oncolytic Surv.m-CRA towards an approval and the development of the next-generation oncolytic immunotherapies using m-CRA-based technology.
3. 学会等名 第23回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎、三井薫、井手佳菜子、伊地知暢広、入江理恵
2. 発表標題 再生医療の独自開発技術の臨床応用と発生学への展望
3. 学会等名 第122回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) による腫瘍溶解・免疫ノ遺伝子ウイルス治療への開発.
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 癌への多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) の医師主導治験と免疫遺伝子ウイルス治療への展望
3. 学会等名 第14日本免疫治療学研究会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手佳菜子、三井薫、小賤健一郎
2. 発表標題 多能性幹細胞における腫瘍化阻止のための新規ベクターシステムの開発
3. 学会等名 第2回JSGCT若手研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 永野聡、小賤健一郎
2. 発表標題 独自開発のサバイピン反応性増殖型アデノウイルスのFirst in human医師主導治験
3. 学会等名 第2回JSGCT若手研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井手佳菜子、三井薫、小賤健一郎
2. 発表標題 新規レンチウイルスベクターシステムによる多能性幹細胞の腫瘍化阻止技術の開発
3. 学会等名 第35回日本ヒト細胞学会学術集会in種子島
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 癌への多因子制御型アデノウイルス (m-CRA) の開発と応用
3. 学会等名 第35回日本ヒト細胞学会学術集会in種子島
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 サバイビン反応性増殖型アデノウイルスベクターによる進行固形腫瘍の治療
3. 学会等名 九州山口小児がん学術講習会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤健一郎
2. 発表標題 幹細胞へのウイルスベクター技術応用を中心とした再生医療の開発
3. 学会等名 第5回臍帯血による再生医療研究会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計5件

産業財産権の名称 ヒト多能性幹細胞の安全領域に長い外来遺伝子を組み込み正常機能させる方法	発明者 小賤健一郎、三井 薫、井手佳菜子	権利者 鹿児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/007164	出願年 2019年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性ががんまで効果的に治療可能な、搭載する免疫誘導遺伝子の最適 発現レベルを与える発現制御システムを有する腫瘍溶解性ウイルス（腫瘍溶解性免疫治 療）	発明者 小賤健一郎、伊地知 暢広	権利者 鹿児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP/2018/0415411	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 癌幹細胞を標的とするウイルスベクター	発明者 小賤健一郎、王宇清	権利者 鹿児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、US 16/045,246	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性がんで効果的に治療可能な、搭載する免疫誘導遺伝子の最適発現レベルを与える発現制御システムを有する腫瘍溶解性ウイルス（腫瘍溶解性免疫治療）	発明者 小賤健一郎、伊地知暢広	権利者 鹿児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2017-215579	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 ヒト多能性幹細胞の安全領域に長い外来遺伝子を組み込み正常機能させる方法	発明者 小賤健一郎、三井薫、井手佳菜子	権利者 鹿児島大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-030699	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	近藤 亨 (Kondo Toru) (30270573)	北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授 (10101)	
研究分担者	三井 薫 (Mitsui Kaoru) (40324975)	鹿児島大学・医歯学域医学系・准教授 (17701)	
研究分担者	永野 聡 (Nagano Satoshi) (50373139)	鹿児島大学・医学部保健学科・教授 (17701)	
研究分担者	伊地知 暢広 (Ijichi Nobuhiro) (80380624)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	
研究分担者	入江 理恵 (Irie Rie) (90381178)	鹿児島大学・医歯学域医学系・技術職員 (17701)	令和2年6月30日付けで研究計画調書提出時の職を退職。

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------