

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：17701
研究種目：基盤研究(B) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20H03645
研究課題名(和文) 骨軟部腫瘍を制圧できる全身性癌免疫誘導の革新的な免疫遺伝子・ウイルス治療の開発

研究課題名(英文) a

研究代表者
小戩 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) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍溶解性ウイルス(OV)のm-CRAプラットフォーム技術で開発したSurv.m-CRA-1は医師主導治験で安全性・治療効果を示し、GM-CSF発現調節型・Surv.m-CRA-2の非臨床研究も進めてきた。本研究では、局所投与で全身性抗腫瘍免疫を誘導し、全身の転移・浸潤巣を抑制する新技術開発を行った。新規のケモカインやサイトカインの遺伝子を発現するOVは、in vivo動物実験で原発巣への治療効果と全身性抗腫瘍免疫誘導で転移巣抑制効果を実証した。免疫チェックポイント、新規のがん関連表面分子の抗体遺伝子、可溶性膜蛋白遺伝子を発現する新規OVを開発し、機能することを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

独自開発のm-CRAプラットフォーム技術で、新規の治療遺伝子・発現システムを搭載する次世代OVを開発することは、科学的な独創性と意義が大きい。さらにこれらの新規OVが革新的治療作用を示し、本研究の科学的成果が最終的に画期的な癌治療薬の実現に繋がれば、その科学的、社会的意義は限りなく大きい。さらに本邦で遅れている本遺伝子治療の分野で、本研究成果が本邦発の画期的創薬開発に繋がれば、この分野全体の発展に貢献するという意義もある。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意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：We developed the m-CRA platform technology for next-generation oncolytic viruses (OVs). Our first drug, Surv. m-CRA-1, demonstrated high safety and therapeutic efficacy in a first-in-human, investigator-initiated clinical trial for patients with malignant bone and soft tissue tumors. Next, we developed Surv.m-CRA-2 armed with GM-CSF gene for the treatment of invasive and metastatic cancers, and preclinical studies are underway. In this study, we have developed innovative immune gene/virus therapies that can more efficiently induce systemic anti-tumor immunity by local administration and suppress systemic metastases and invasive tumors. Novel OV expressing immune checkpoints and antibody genes for novel cancer-related surface molecules, and novel OV expressing soluble membrane protein genes functioned properly. These novel OV has demonstrated a potent therapeutic effect on primary tumors and induction of systemic anti-tumor immunity to suppress metastatic tumors.

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

1. 研究開始当初の背景

骨軟部肉腫の多くは、)浸潤・転移巣には未だ有効な治療法が限られ、)分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤の効果も限られているという、「癌治療共通・根幹の解決すべき重要課題」を内在している。しかし骨軟部肉腫への革新的(新モダリティの)癌治療法の研究は世界的にも限られ、その開発が切望されている。

骨軟部肉腫(骨と軟部組織を原発とする悪性腫瘍)

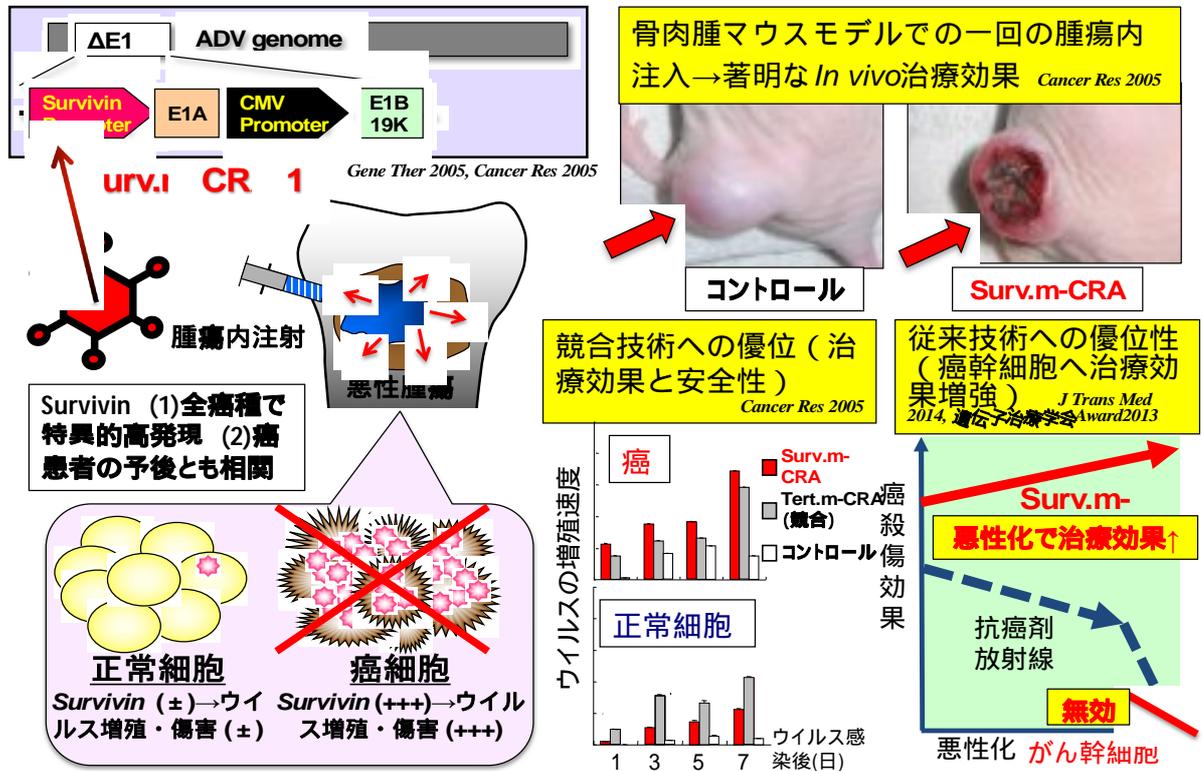
化学療法は、軟骨肉腫や脊索腫はじめ、無効・不応の癌腫/症例も多く、副作用も問題である。近年期待される手術不能例への重粒子線治療は、局所作用のみで、遠隔転移症例には効果・適応もない。免疫チェックポイント阻害剤は未だ臨床試験が進行中だが、劇的な治療効果の報告は未だない(J Bone Oncol 15:100221,2019; Oncologist 23:71-83,2018)。OV等の革新的治療法も、比較的少ない患者数(骨と軟部組織の肉腫は本邦で500人弱、2500人弱)のため、骨軟部肉腫を主体(主標的の癌腫)として、オリジナルの基盤技術から研究開発している例は稀である。

免疫チェックポイント阻害剤(ICI)

ICIは癌治療のブレークスルーとなった一方で、奏効がみられる癌腫・症例は限られる。近年、ICIの治療効果と遺伝子変異量(TMB: Tumor Mutation Burden)との正の相関が示唆されるが(Ann Oncol 30: 44-56, 2019)肉腫のTMBは低レベル(Oncologist 23:234-242,2018)で、骨軟部肉腫へのICIの治療で劇的効果の報告も未だない。よって「ICIに不応の骨軟部肉腫やTMB低レベル癌も含む全癌腫に、癌免疫誘導を確実に最大化できる新たな治療分子・技術」の開発が切望されている。その中でもOVは、「癌免疫Coldの癌腫の微小環境をHotに変えて、ICIの癌免疫誘導作用を表出できる」最有力候補として注目されている(Cell 170, 1109-1119, 2017; Best of Cell 2017)。

また抗体医薬としてのICIは全身投与が必要なため、自己免疫疾患、糖尿病などの、新しいタイプの全身性副作用の出現が問題となっており、「副作用を生じず、癌免疫を誘導できる革新技術」の開発が求められている。

図1. Surv.m-CRA-1の特性 (治療作用・効果、優位性)



「がん細胞で特異的にウイルスが増殖し殺傷効果を示す遺伝子組換えウイルス」のOV(図1)は、T-Vec® (GM-CSF 搭載OV)が2015年末に欧米で医薬承認され、世界的には本分野全体が革新的がん治療薬有力候補として期待されている。しかし本邦では遺伝子治療全体の臨床プロトコール数は世界の僅か1%台で、オリジナルでない臨床研究も多いため、「医師主導治験に繋がる独自技術の開発」が本邦の最重要課題である。一方でT-Vec®や海外の競合OVも、未だ安全性・治療効果に限界があり、「全く新たな治療遺伝子や革新技術で、高い癌特異性(安全性)と劇的な全身性の癌免疫誘導できる次世代の免疫遺伝子・ウイルス治療の開発」は、最重要課題である。

2. 研究の目的

本研究の目的は「骨軟部肉腫を標的とした浸潤・転移腫瘍への革新的治療法の開発」である。

そのため、独自開発のm-CRA技術で、基礎研究ならびに医師主治験で画期的な治療効果を示したSurv.m-CRA-1の基本骨格に(図1)新規の癌免疫治療遺伝子・発現システム等を組み込んだ新世代のSurv.m-CRAを開発することを目的とする。その新規の遺伝子システムとしては、免疫チェックポイント阻害剤と癌免疫関連表面分子の抗体遺伝子発現型Surv.m-CRA、可溶性膜蛋白遺伝子発現型Surv.m-CRA、新規の「ケモカイン」遺伝子発現型Surv.m-CRA、最適な「サイトカイン」遺伝子発現型Surv.m-CRAである。

3. 研究の方法

1) 各種の治療遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAの開発

独自開発のm-CRA作製技術(図2)で、Survivin promoterを(1)に入れて結合させたP1+3に、

治療遺伝子ユニットの P2 を融合させて作製した P1+2+3 プラスミドを、293 細胞にトランスフェクションする。産生した各ウイルスは、PCR、シーケンス、発現解析で確認後、大量調整・純化し、実験に用いる。

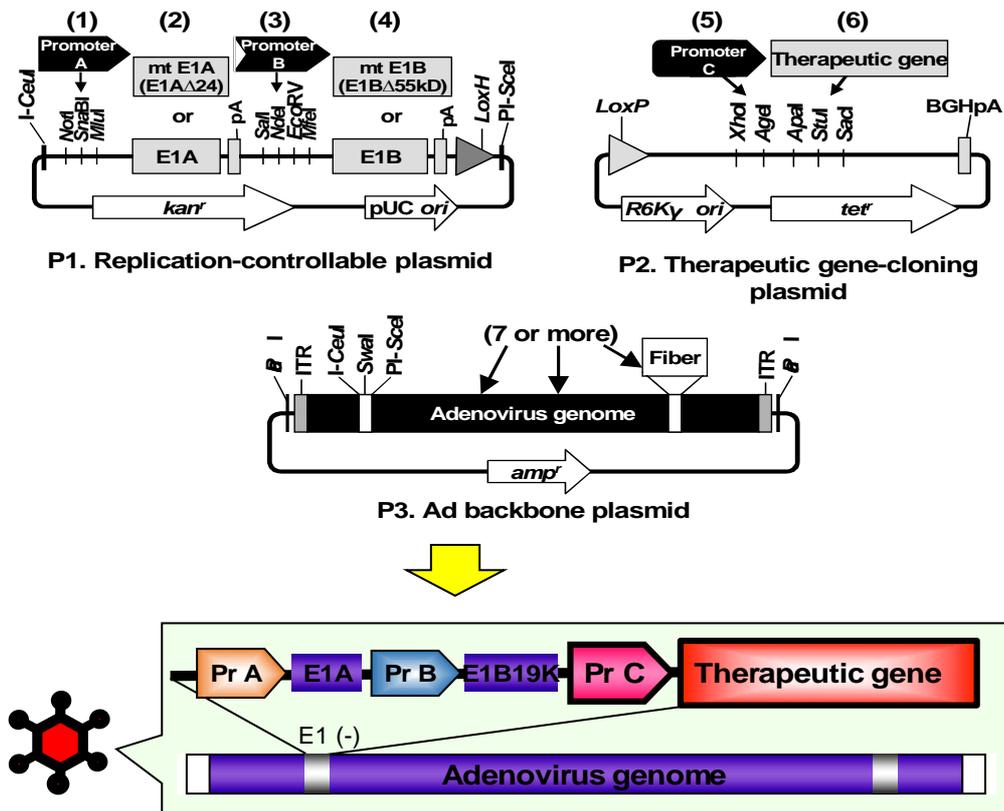


図 2. m-CRA 作製の 3 プラスミドシステム

2) 各種 Surv.m-CRA の *in vitro* 機能解析

OV の基本特性

オリジナルの Surv.m-CRA-1 (治療遺伝子未搭載) と癌特異的ウイルス増殖・殺傷の特性に変化がないか解析する。

治療遺伝子の *in vitro* での発現・機能解析

各種 Surv.m-CRA の癌細胞株に感染後の培養上清で、各治療遺伝子の蛋白質発現量を調べる。

In vivo での治療効果・安全性評価の実験

我々は Surv.m-CRA-2 の開発で既に、ヒトアデノウイルスが増殖できるハムスターで、免疫能を保持した Syngenic tumor model を確立している。ハムスター癌細胞株を同種ハムスターに皮下移植し、腫瘍結節に、各種の治療遺伝子を持つ新規 Surv.m-CRA を腫瘍内注入(局所投与)する。治療効果は、経日的な腫瘍径の計測での腫瘍縮小効果、生存実験、腫瘍局所の病理組織学解析などで解析する。安全性は、血液生化学検査、各臓器の病理組織で評価する。

全身性抗腫瘍免疫の誘導効果の解析

2 種類のハムスター癌細胞株で、上記と同様の局所投与の治療実験後、最初に移植した親細胞株あるいは別種の細胞株を遠隔部に移植することで、治療後に腫瘍細胞種特異的な全身性の抗腫瘍免疫が獲得されているかを調べるチャレンジテストを行う。

4 . 研究成果

研究目的であった、免疫チェックポイント阻害剤と癌免疫関連表面分子の抗体遺伝子発現型 Surv.m-CRA、可溶性膜蛋白遺伝子発現型 Surv.m-CRA、新規の「ケモカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA、最適な「サイトカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA を作製できた。

いずれの新規 Surv.m-CRA も、搭載された治療遺伝子からタンパクが正しく産生された。

新規の「ケモカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA、最適な「サイトカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA はウイルスの特性には変化がなく、治療遺伝子搭載によるウイルスへの悪影響はなかった。Syngenic tumor model での in vivo 治療実験では、ケモカイン、サイトカインとも、原発巣に有意な治療効果を示した。さらにこれらのウイルスを 2 種類、3 種類でコンビネーション（カクテル）で投与すると、その治療効果は相乗的に増強された。また同モデルでの腫瘍局所へのウイルス治療後のチャレンジテストでは、親細胞だけが腫瘍形成が阻害され、異種細胞の腫瘍形成には影響がなかった。よって新規の「ケモカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA、最適な「サイトカイン」遺伝子発現型 Surv.m-CRA は、局所投与で、腫瘍特異的な全身性抗腫瘍免疫を誘導できることが実証できた。また原発腫瘍への治療効果と同様に、チャレンジテストでの転移抑制の治療効果も、これらのウイルスを 2 種類、3 種類でコンビネーション（カクテル）での投与により、増強された。

また免疫チェックポイント阻害剤と癌免疫関連表面分子の抗体遺伝子発現型 Surv.m-CRA、可溶性膜蛋白遺伝子発現型 Surv.m-CRA に関しては、正しいウイルスの作製ができた。またウイルス特性には悪影響がなかった。これらのウイルス感染後の培養上清の解析において、これらのウイルスから産生された新規遺伝子由来のタンパクが正しく機能することが実証できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Mitsui Kaoru, Takahashi Tomoyuki, Ide Kanako, Matsuda Eriko, Kosai Ken-ichiro	4. 巻 541
2. 論文標題 Optimization of adenoviral gene transfer in human pluripotent stem cells.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 78-83
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2021.01.009	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 Matsuda Eriko, Obama Yuki, Kosai Ken-ichiro	4. 巻 268
2. 論文標題 Safe and low-dose but therapeutically effective adenovirus-mediated hepatocyte growth factor gene therapy for type 1 diabetes in mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life Sciences	6. 最初と最後の頁 119014
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.lfs.2020.119014	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8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 From R&D to global commercialization of next-generation oncolytic virus immunotherapy
3. 学会等名 2023 SPARK Taiwan Global Meeting（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 Opening up the future with gene therapy
3. 学会等名 2023 BIO Asia-Taiwan（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 腫瘍溶解性ウイルスの独自開発：ベクター・創薬開発、非臨床、医師主導治験(FIHから 相へ)
3. 学会等名 ACT japanフォーラム(特別講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 First-in-Human Phase I clinical trial of Surv.m-CRA-1(survinvin-responsive conditional i replicating adenovirus)
3. 学会等名 IOVC2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 医学研究者の立場から
3. 学会等名 橋渡し研究支援機関キックオフシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ken-ichiro Kosai
2. 発表標題 Cancer Gene Therapy In Particular Oncolytic Virus Immunotherapy.
3. 学会等名 4th International Conference on Translational Medicine and Health Sciences(ICTMHS2020) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西川路侑耶、伊地知暢広、三井薫、小戔健一郎
2. 発表標題 次世代の腫瘍溶解性ウイルスの開発と癌と再生医学への治療応用
3. 学会等名 日本解剖学会第76回九州支部学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Satoshi Nagano, Toshitaka Futagawa, Eriko Sumi, Nobuhiro Ijichi, Munekazu Yamakuchi, Masanori Nakajo, Teruto Hashiguchi, Yasuo Takeda, Takashi Yoshiura, Akira Shimizu, Muneo Takatani, Setsuro Komiya, Ken-ichiro Kosai.
2. 発表標題 Survivin-responsive Conditionally Replicating Adenovirus for Patients with Advanced Sarcoma Demonstrated Potent and Longterm Efficacy and High Safety in Phase 1 Clinical Trial.
3. 学会等名 2020 ASCO Annual Meeting. (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計4件

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性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 小戔健一郎、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 2019-552379	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性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 小戔健一郎、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、US 167758,019	出願年 2020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 小戔健一郎、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、EU 18875645.6	出願年 2020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 小戔健一郎、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、CN 201880072138.9	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔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	永野 聡 (Nagano Satoshi) (50373139)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	
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	伊地知 暢広 (Ijichi Nobuhiro) (80380624)	鹿児島大学・医歯学域医学系・助教 (17701)	削除：2022年8月26日
研究分担者	入江 理恵 (Irie Rie) (90381178)	鹿児島大学・医歯学総合研究科・技術職員 (17701)	研究計画調書提出時の職を辞した後、令和3年4月1日より科研費応募資格についても喪失したため、令和2年6月30日付けで分担より削除済み。

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