

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 4 月 16 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21591662

研究課題名（和文）リンパ球ヒッチハイク法による抗腫瘍ウイルス療法

研究課題名（英文）Oncolytic Virus Therapy using Hitch hike method on Lymphocyte

研究代表者

粕谷 英樹 (Hideki Kasuya)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00402636

研究成果の概要（和文）：

腫瘍溶解性ヘルペスウイルス R3616 を使用してマウス大腸癌細胞 (MC26)を抗原認識したリンパ球にウイルスを吸着させて Target tumor まで搬送させる手技を確立した。MC26 腫瘍細胞を抗原認識したリンパ球は R3616 を吸着したまま変性失活することなく Target tumor に到達しウイルスを腫瘍細胞に感染させ抗腫瘍効果を示す事が示された。この作用は腫瘍細胞を抗原認識していないリンパ球に R3616 を吸着させた場合と比べ統計学的有意差を認め臨床応用への基礎データを得た。

研究成果の概要（英文）：

We have researched new methodology using anti tumor lymphocyte for delivering oncolytic virus R3616. Adsorbed R3616 on tumor antigen specific lymphocyte reached target tumor, and infected to tumor cells. This anti tumor effect has statistic different from adsorbed R3616 on tumor antigen non-specific lymphocyte. We acquired precious basic data for clinical trial.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：消化器外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：癌、ウイルス、転移性肝癌、腫瘍溶解性ウイルス、HF10

1. 研究開始当初の背景

数々の抗腫瘍薬が開発され外科的な切除術が進歩を遂げている中で未だ癌のコントロールは不良である。特に固形癌に有効な副作用の少ない抗腫瘍薬は殆ど存在しない。こうした難治癌疾患に対して患者さんに優しい独創的な新規の抗腫瘍薬の開発が切望され

ている。腫瘍溶解性ウイルスを用いる遺伝子治療は、ウイルスが癌細胞に感染し増殖して内部から破壊するため従来の遺伝子治療よりも強力な治療効果が期待できる。また、最近では腫瘍特異的なリンパ球の誘導など、癌ワクチンすなわち全身療法としての効果も明らかにされつつある。

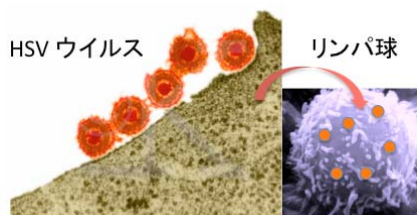
2. 研究の目的

当科は消化器外科臨床教室として全身転移した進行癌に接することが多く腫瘍溶解性ウイルスの DDS(drug delivery system)として転移腫瘍に対する血管内投与の必要性を強く感じ、血管内投与による血流を介したウイルスデリバリーシステムの開発を目的とした。

3. 研究の方法

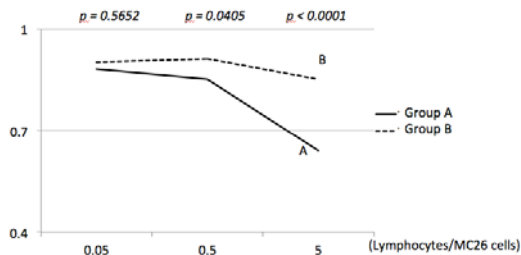
1. BALB/c mice に MC26 1×10^4 pfu/ml を腹腔内投与して、翌日に腫瘍溶解性ウイルス R3616 1×10^6 pfu/ml を腹腔内投与する。3 週間以上腹囲が変わらず生存したマウスに Re challenge として MC26 1×10^4 pfu/ml を再度投与する。腫瘍抵抗性の免疫を獲得したことを示す。

2. 非治療群は MC26 1×10^4 pfu/ml の投与で全例死亡するのに対して、腫瘍免疫を獲得したマウスの脾臓からリンパ球を抽出して腹腔内へ投与した群は癌性腹膜炎の発症を抑えることが出来る。コントロールとして腫瘍免疫を獲得していないマウスの脾臓を同じように使用しても、癌性腹膜炎の発症は抑えられない事を示す。



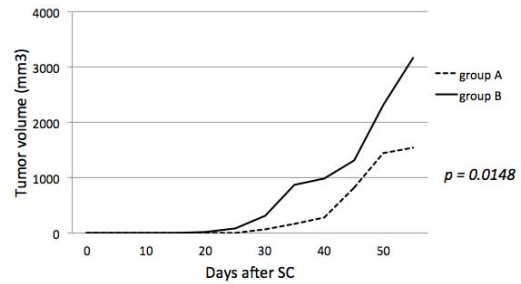
4. 研究成果

MC26cell に対して抗原性を獲得したリンパ球 (A 群) と獲得していないリンパ球 (B 群) に腫瘍溶解性ウイルス R3616 を吸着させて In vitro で殺細胞効果を検討した。リンパ球と MC26 cell との比を 0.05, 0.5, 5 ratio に分けて $P=0.5652$, 0.0405 , 0.0001 の 2 群間の統計学的有意差を持って A 群がより強い殺細胞効果を示した。



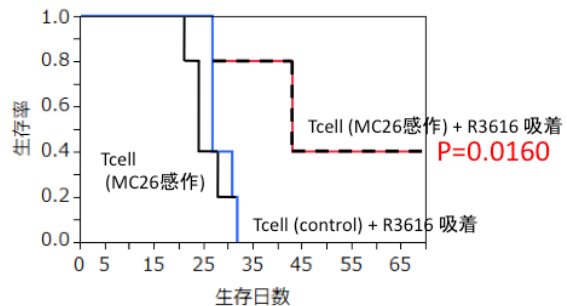
さらに 2 群間の抗腫瘍効果を In vivo で検討した。尾静脈に注入された A 群はマウスの背

部に移植された MC26 cell に到達し統計学的有意差を持って抗腫瘍効果を示した ($P=0.0148$)。



腫瘍溶解性ヘルペスウイルスの 1 つとして汎用される R3616 を使用してマウス大腸癌細胞 (MC26) を抗原認識したマウスのリンパ球にウイルスを付着させて Target tumor まで搬送させる予備実験を行い、手技を確立した。MC26 腫瘍細胞を抗原認識したリンパ球は R3616 を吸着したまま変性失活することなく Target tumor に到達しウイルスを感染させ抗腫瘍効果を示す事が示された。MC26 細胞へのウイルス感染は Quantitative-PCR 法にて確認された。この作用は腫瘍細胞を抗原認識していないリンパ球に R3616 を吸着させた場合と比べ統計学的有意差を認めた (グラフ: $P=0.0160$)。

MC26に感作したT cellリンパ球にR3616を吸着し
静注：腹膜播種(MC26)に対する治療効果



腫瘍免疫を獲得したマウスより採取したリンパ球に腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスである R3616 を吸着させ、腹膜播種をきたしたマウスに対し静脈内投与を行ったところ、40%のマウスで治癒が得られ、その有効性が示唆された。またリンパ球に対する腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスの影響について検討を行ったが、影響はなかった。リンパ球に吸着したウイルスの腫瘍への移行効率について検討を行ったところ、腫瘍特異的リンパ球を”trojan horse”として用いることで腫瘍により効率的にウイルスが受け渡されることがわかった。

考察) 腫瘍特異的リンパ球に腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスを吸着させることにより、全身投与でより高い効果が得られると考えられた。効率的に腫瘍にウイルスが到達し、抗腫瘍効果を発揮したものと考えられ、原発巣のみならず多発する転移などへの効果も期待され、今後有効な腫瘍溶解性ウイルスの投与方法の一つとなる可能性が示唆された。

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 8 件)

- ① Kanzaki A, Kasuya H, Yamamura K, Sahin TT, Nomura N, Shikano T, Shirota T, Tan G, Fukuda S, Misawa M, Nishikawa Y, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Nomoto S, Takeda S, Kodera Y, Nakao A, Antitumor efficacy of oncolytic herpes simplex virus adsorbed onto antigen-specific lymphocytes., *Cancer Gen Ther*, 査読有, 2011.9. [Epub ahead of print]
- ② Shirota T, Kasuya H, Kodera Y, Nishikawa Y, Shikano T, Sahin TT, Gewen T, Yamamura K, Fukuda S, Kanzaki A, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Nomoto S, Takeda S, Nakao A, Oncolytic herpes virus induces effective anti-cancer immunity against murine colon cancer., *Hepatogastroenterology* 査読有, Vol.58, No.1, 2011, pp.110-111
- ③ Sahin TT, Kasuya H, Nomura N, Shikano H, Yamamura K, Gewen T, Kanzaki A, Fujii T, Sugae T, Imai T, Nomoto S, Takeda S, Sugimoto H, Kikumori T, Kodera Y, Nishiyama Y, Nakao A, Combination of the Tumor Angiogenesis Inhibitor Bevacizumab and Intratumoral Oncolytic Herpes Virus Injections as a Treatment Strategy for Human Gastric Cancers, *Cancer Gene Ther...*, 査読有, 2011.9. [Epub ahead of print]
- ④ Nakao A, Kasuya H, Sahin TT, Nomura N, Kanzaki A, Misawa M, Shirota T, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Shikano T, Nomoto S, Takeda S, Kodera Y, Nishiyama Y, A phase I dose-escalation clinical trial of intraoperative direct intratumoral injection of HF10 oncolytic virus in non-resectable patients with advanced pancreatic cancer, *Cancer Gen Ther*, 査読有, Vol.18, No.3, 2011, pp.167-175
- ⑤ Shikano T, Kasuya H, Sahin TT, Nomura N, Kanzaki A, Misawa M, Nishikawa Y, Shirota T, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Kanazumi N, Nomoto S, Takeda S, Nakao A, High therapeutic potential for systemic delivery of a liposome-conjugated herpes simplex virus, *Curr Cancer Drug Targets*, 査読有, Vol.11, No.1,

2010, pp.111-122

- ⑥ 粕谷英樹、竹田伸、野本周嗣、野村尚弘、杉本博行、鹿野敏雄、西川洋子、三澤真、城田高、山田豪、神崎章之、藤井努、Tevfik Tolga Sahin、西山幸廣、中尾昭公。膵臓癌におけるトランスレーショナルリサーチの展望。査読有り 膵臓 (Journal of the Japan pancreas society) Vol.25 No.1 2010 p46-52
- ⑦ 粕谷英樹、竹田伸、今井常夫、野本周嗣、野村尚弘、杉本博行、三澤真、山田豪、神崎章之、藤井努、Tevfik Tolga Sahin、西山幸廣、中尾昭公 腫瘍溶解性ウイルス、HF10 を使用したトランスレーショナルリサーチ。査読有り分子細胞治療フロンティア 2010 2010 p39-45
- ⑧ Nomura N, Kasuya H, Watanabe I, Shikano T, Shirota T, Misawa M, Sugimoto H, Kanazumi N, Nomoto S, Takeda S, Nakao A, Considerations for intravascular administration of oncolytic herpes virus for the treatment of multiple liver metastases, *Cancer Chemother Pharmacol*, 査読有, Vol.63, No.2, 2009, pp.321-330

[学会発表] (計 13 件)

- ① 粕谷英樹 腫瘍溶解性ウイルス HF10 の臨床研究と投与後の腫瘍内 Micro environmental change について 第 24 回バイオセラピー学会 2011.12.1 和歌山
- ② Kasuya H, INDUCED MICROENVIRONMENTAL CHANGES OF TARGETED TUMOR CAUSED BY HF10 ONCOLYTIC VIRUS THERAPY 第 17 回日本遺伝子治療学会 2011.7.15 福岡
- ③ 粕谷英樹 腫瘍溶解性ヘルペスウイルスによる抗腫瘍 Adjuvant 効果 第 111 回日本外科学会 2011.5.26 要旨集
- ④ Kasuya H, Clinical Trial of HF10 Oncolytic Virus Therapy induced Microenvironmental Changes of Targeted Tumor. the 6th International Conference on Oncolytic Viruses as Cancer Therapeutics. 2011.3.11 Las Vegas USA
- ⑤ Kasuya H, Biological therapeutic HF10 oncolytic virus therapy, The Society of Surgical Oncology the 64th Annual Cancer Symposium, 2011.3.2-5, San Antonio, USA
- ⑥ 神崎章之、腫瘍特異的リンパ球に吸着した腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスの抗腫瘍効果の検討、第 48 回日本癌治療学会学術集会、2010 年 10 月 28 日、京都
- ⑦ Kasuya H, Novel therapeutic method of HF10 oncolytic virus therapy for advanced pancreatic cancer, Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, 2010.7.11, Fukuoka, Japan

- ⑧ 粕谷英樹、HF10 の軌跡と EUS 下投与を含めた今後の展望、第 110 回日本外科学会定期学術集会、2010 年 4 月 8 日、名古屋
- ⑨ Kasuya H, Translational study using HF10 oncology virus against pancreatic cancer, 40th Anniversary Joint Meeting of the American Pancreatic Association and Japan Pancreas Society, 2009.11.7, Honolulu, Hawaii
- ⑩ 野村尚弘、HF10 の臨床成績について、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 2 日、横浜
- ⑪ Kasuya H, New method using oncolytic virus for breast and pancreatic cancer, 19th World Congress of the international Association of Surgeons, Gastroenterologists, and Oncologists, 2009.9.26, Beijing, China
- ⑫ 粕谷英樹、HF10 の臨床成績と腫瘍内のウイルスの長期存在について、第 40 回日本膵臓学会大会、2009 年 7 月 31 日、東京
- ⑬ 粕谷英樹、腫瘍溶解性ウイルス HF10 の臨床成績と今後の展開、第 109 回日本外科学会定期学術集会、2009 年 4 月 2 日、福岡

[その他]

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-u.ac.jp/surgery2/scientific/study/virus/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

粕谷 英樹 (KASUYA HIDEKI)

名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00402636

(2) 研究分担者

中尾 昭公 (NAKAO AKIMASA)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：701647542
(H21～H22)

竹田 伸 (TAKEDA SHIN)

名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：20314015

杉本 博行 (SUGIMOTO HIROYUKI)

名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20437007

野本 周嗣 (NOMOTO SHUJI)

名古屋大学・医学部附属病院・病院講師
研究者番号：40300967

(3) 連携研究者 なし