

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：17102
 研究種目：基盤研究(A)
 研究期間：2011～2014
 課題番号：23240133
 研究課題名(和文)コクサッキーウイルスB群3型を用いた悪性腫瘍に対する斬新な腫瘍溶解療法の臨床開発

 研究課題名(英文)Clinical development of the novel oncolytic coxsackievirus B3 targeting malignant tumors

 研究代表者
 谷 憲三郎 (Tani, Kenzaburo)

 九州大学・生体防御医学研究所・教授

 研究者番号：00183864

 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 37,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究はcoxsackievirus B3(CVB3)を用いた悪性腫瘍患者に対する斬新な治療法を開発するために、以下の2つの研究を実施した。
 (1)腫瘍特異性、抗腫瘍免疫誘導性を考慮した次世代腫瘍溶解性ウイルス治療法の開発を目指し、正常細胞への感染制御を目的に各組織に特異的に発現するmiRNAの相補配列搭載CVB3(CVB3-miRT)を作製した後、抗腫瘍免疫誘導能向上の為に顆粒球マクロファージコロニー刺激因子遺伝子搭載CVB3-GM-CSFを開発した。
 (2)前臨床研究開始に向け、我々はGood Manufacturing Practice(GMP)準拠の試薬・機材を用いた大量製造法を開発した。

研究成果の概要(英文)：Oncolytic viruses are characterized by self-replicating and tumor killing capacity, and have emerged as a promising treatment platform for cancer therapy. We previously carried out the screening of approximately 40 enterovirus strains and found that CVB3 possessed specific oncolytic activity against cell lines of human lung cancer, malignant pleural mesothelioma and breast cancer. In this study, two experiments were performed for the development of the novel oncolytic coxsackievirus B3 therapy. (1) To overcome CVB3-related organ toxicities, we constructed a novel recombinant CVB3-miRT by genetically incorporating two distinct normal tissue-specific miRNA target sequences into the CVB3 genome. We next constructed CVB3 inserting GM-CSF gene (CVB3-GM-CSF) to improve anti-tumor immunity. (2) For the purpose of producing CVB3 reagent under Good Manufacturing Practice (GMP), we developed mass production method using GMP grade reagents and instruments.

研究分野：血液腫瘍学

キーワード：腫瘍溶解性ウイルス コクサッキーウイルスB群3型 miRNA 顆粒球マクロファージ刺激因子 ウイルス製剤製造 一般毒性試験

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍は日本人の死因の第一番目であり、統計上は現在国民の3人に1人がこのために亡くなっている。諸家の長年の努力により悪性腫瘍に対する手術療法、放射線療法、分子標的薬を含む化学療法の進歩は著しく、早期発見例における治療成績のみならず罹患後の生存期間の延長が著しくはかられてきてはいるものの、悪性腫瘍による死亡率は依然として高く、新たな治療法の導入が望まれている。近年ウイルス自身が本来有する腫瘍溶解性を利用した、Oncolytic virotherapy (以下腫瘍溶解性ウイルス療法と略) が注目されてきており、世界的には様々なウイルスを用いた臨床研究が実施されている。しかしながら、安全性と一部有効性を示唆する結果が報告されているものの、その臨床的效果はまだ十分とは言えない。

我々は日本における新たな腫瘍溶解性ウイルス療法の開発を目的に、RNAウイルスであるピコルナウイルス科のエンテロウイルス属に着目して、約40種類のエンテロウイルスをスクリーニングし、その中からコクサッキーウイルスB群3型(CVB3)が複数の正常細胞を傷害せず肺癌を特異的に溶解することを発見した(図1)。

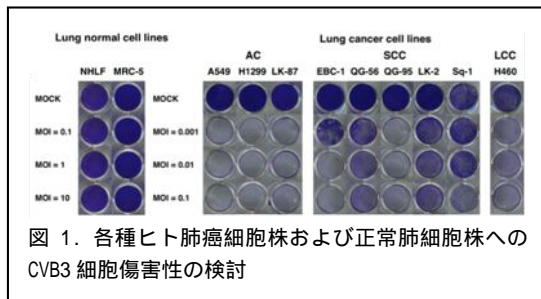


図1. 各種ヒト肺癌細胞株および正常肺細胞株へのCVB3細胞傷害性の検討

また、担癌マウスにおける強力な抗腫瘍効果、及び各種免疫細胞の*in vivo*抗腫瘍効果への関与を明らかにした。しかし、CVB3はヒトに対して心筋炎あるいは膵炎を引き起こす可能性が報告されており、事実我々のマウスを用いた実験結果においても、CVB3腫瘍内投与時に膵炎および軽度の心筋炎の発生を認めた。したがって、臨床応用を実現する上で、本ウイルス療法の安全性の向上、前臨床研究における安全性の検討が重要な課題と考えられる。

2. 研究の目的

本研究は上記課題を克服し、既存治療に抵抗性の悪性腫瘍患者に対する斬新な治療法を開発するために、以下の研究を行うことを目的としている。すなわち、(1)次世代腫瘍溶解性ウイルス療法の開発を、腫瘍特異性、腫瘍免疫誘導性、ならびに癌幹細胞溶解可能性の3点を十分に考慮した上で行う。(2)既存治療抵抗性悪性腫瘍患者を対象としたCVB3腫瘍溶解性ウイルス療法の臨床研究実施可能性を検討する為の前臨床研究開始に向けてGMP (good manufacturing practice)

準拠製剤を開発し、マウスおよびカニクイザルを用いた一般毒性試験を開始する。本研究により安全性と有効性に優れた新規悪性腫瘍治療法の効率良い開発を目指す。

(1) 遺伝子改変による安全性および抗腫瘍免疫誘導能向上

優れた抗腫瘍効果を呈したCVB3の次世代腫瘍溶解性ウイルス療法の開発を、腫瘍特異性ならびに抗腫瘍免疫誘導性向上の2点を十分に考慮した上で行う。具体的にはCVB3のマウス投与時の各臓器における炎症反応等の副作用の軽減あるいは消失を目的とし、正常細胞感染時には増殖することのできない遺伝子改変CVB3を作製する。

また、宿主免疫系を刺激し腫瘍抗原特異的免疫応答を促進するサイトカイン遺伝子を同時に発現させることで、同ウイルス療法の長期的抗腫瘍効果の増強を図る。

CVB3腫瘍溶解性ウイルス療法が、抗癌剤や放射線治療抵抗性を有する癌幹細胞あるいは転移に関わるEMT (Epithelial to Mesenchymal Transition) 癌細胞に対して抗腫瘍効果を誘導する可能性について検討する。

CVB3腫瘍溶解性ウイルス療法の臨床研究に向けて、肺癌以外への適応拡大を目指す。

(2) 前臨床試験に向けたGMP準拠製剤の開発

CVB3腫瘍溶解性ウイルス療法の臨床研究実施可能性を検討するため、前臨床研究に向けたGood Manufacturing Practice (GMP) 準拠製剤の大量製造法を検討する。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子改変による安全性および抗腫瘍免疫誘導能向上

次世代腫瘍溶解性ウイルス療法では、CVB3による炎症反応等の副作用の軽減あるいは消失させる目的で、心臓および膵臓特異的miRNA (miR-1およびmiR-217) の相補配列をoverlap extension PCR法によりウイルスゲノムの3'側に挿入した遺伝子改変CVB3を作製した。具体的には、CVB3ゲノム配列の3' untranslated region (UTR) に筋組織または膵臓に特異的に発現するmiR-1、miR-217に相補的な配列であるmiR-1TあるいはmiR-217Tを、それぞれmiR-1Tを2個及びmiR-217Tを2個タンデムに結合した配列を挿入した遺伝子改変CVB3 (CVB3-miR-1&217T)、あるいはmiR-217T配列を4個挿入した遺伝子改変CVB3 (CVB3-miR-217T)を作製した。

得られた遺伝子改変CVB3を*in vitro*でそれぞれのmiRNA発現依存性に増殖するのか、または担癌マウスに投与し、体内動態および有害事象として出現し得る膵炎ならびに心筋炎発症予防の有無を、各臓器のH&E (ヘマトキシリンエオジン) 染色ならびに生化学検査により確認した。

次に、抗腫瘍免疫誘導性向上に向けた次

世代腫瘍溶解性ウイルス療法の為に、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を様々なタンパク質発現手法と組み合わせた遺伝子改変 CVB3 を作製した (CVB3-GM-CSF)。その後、CVB3-GM-CSF を用いて担癌 C57BL/6 マウスモデルにおける *in vivo* 抗腫瘍効果の検討を行った。

更に CVB3 腫瘍溶解性ウイルス療法が、抗癌剤や放射線治療抵抗性を有する癌幹細胞あるいは EMT 癌細胞に対して抗腫瘍効果を誘導するかどうか検討した。具体的には、癌幹細胞には SP (side population) 細胞を Flow cytometry 法にて純化し、EMT 癌細胞は TGF- β を添加することにより作製した後、これらに細胞に CVB3 を感染させ、CVB3 感受性を親癌細胞と比較検討した。

悪性中皮腫細胞およびトリプルネガティブ乳癌細胞を対象に、*in vitro* 実験および *in vivo* 担癌マウスモデルを用いた肺癌以外の固形腫瘍に対する抗腫瘍効果の検討を行った。

(2) 前臨床試験に向けた GMP 準拠製剤の開発

CVB3 腫瘍溶解性ウイルス療法の臨床研究実施可能性を検討するため、前臨床研究に向けた GMP 準拠製剤の大量製造法を検討した。

ウイルスの大量培養法、ウイルス大量精製法、閉鎖系、GMP 準拠試薬・機器に留意しながら検討を行った。

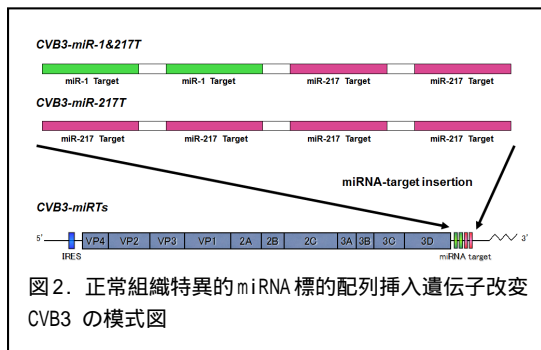
4. 研究成果

(1) 遺伝子改変による安全性および抗腫瘍免疫誘導能向上

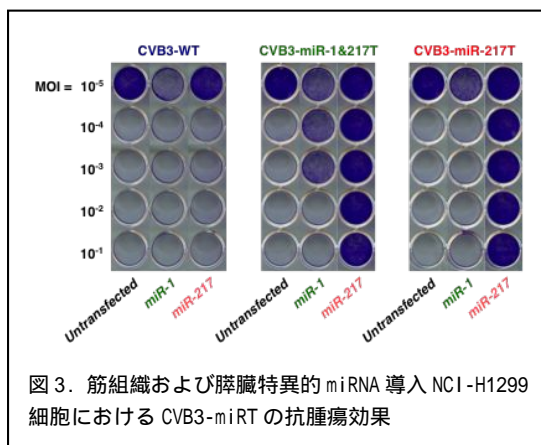
本研究では次世代腫瘍溶解性ウイルス療法の開発を、『安全性をさらに高め、再発抑制を含めた全身性抗腫瘍免疫効果の誘導』を十分に考慮した上で実施する。

野生型 CVB3 (CVB3-WT) は担癌マウスモデルにおいて強力な抗腫瘍効果を誘導するとともに、心筋炎および膵炎を誘発するという副作用が生じる。そこで我々は、CVB3-WT の欠点である正常筋組織及び膵臓への感染を克服すべく、各組織に特異的に発現する miRNA の相補配列を搭載した CVB3-miRT (CVB3-miR-1&217T および CVB3-miR-217T) を開発した。

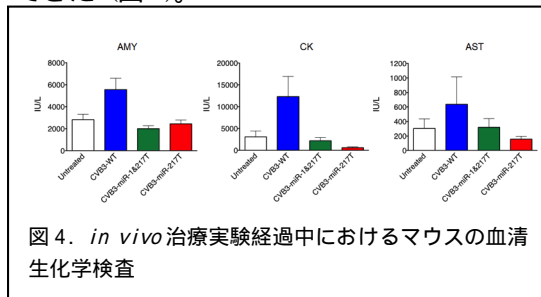
我々は 2 種の miRNA に着目し、1 種は筋組織および正常細胞特異的に発現していると言われている miR-1、もう 1 種は膵臓特異的に発現していると言われている miR-217 を組み合わせ、計 4 個の miRNA 標的配列が連続している 2 種類の miRNA 標的配列 (miR-1 \times 2 & miR-217 \times 2、miR-217 \times 4) を作製した。2 種類の標的配列をそれぞれ CVB3 ゲノムの 7304-7305bp の間に overlap extension PCR 法を用いて挿入し、CVB3-miR-1&217T および CVB3-miR-217T を作製した (図 2)。



次に、miR-1 と miR-217 の発現が殆ど見られない NCI-H1299 細胞に miR-1 および miR-217 をトランスフェクションにより導入し、CVB3-miRT の増殖抑制の有無について検討した。その結果、miR-1 を導入した NCI-H1299 細胞において、CVB3-miR-1&217T は CVB3-WT と比較して 100 倍のウイルス量を感染しても腫瘍溶解効果が抑制されることが明らかとなった (図 3)。また、miR-217 を導入した NCI-H1299 細胞においては、CVB3-miR-1&217T および CVB3-miR217T は CVB3-WT と比較して 10,000 倍のウイルス量を感染しても腫瘍溶解効果が抑制された (図 3)。



また、*in vitro* で見られた増殖抑制効果のマウス *in vivo* における組織特異的の発生について検討したところ、CVB3-miRT 投与群では CVB3-WT 投与群で見られた膵炎および筋炎は認められず、安全性の飛躍的向上が確認できた (図 4)。



さらに、CVB3-miRT の *in vivo* における抗腫瘍効果は、CVB3-WT と同等であった (図 5)。

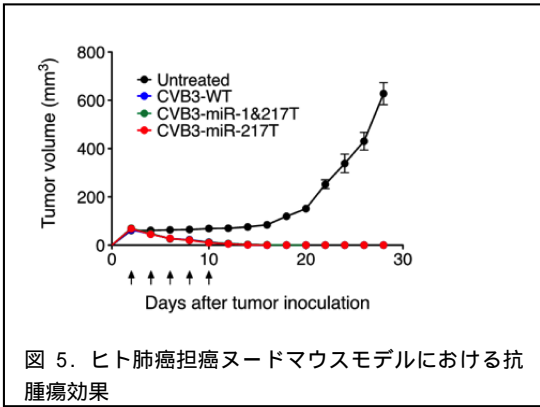


図 5. ヒト肺癌担癌ヌードマウスモデルにおける抗腫瘍効果

次に、CVB3 の免疫刺激性を向上させる目的で GM-CSF 遺伝子を CVB3 ゲノムに挿入した遺伝子改変 CVB3-GM-CSF を作製した。まず、既知の CVB3 遺伝子改変法である CVB3 由来 3C プロテアーゼ認識配列を利用した GM-CSF 発現ウイルスを作製し比較検討したが、CVB3-GM-CSF ウイルス産生自体が抑えられ、最良のものでも非常に低いウイルス力価しか得られなかった。本問題を解決するため、GM-CSF の発現方法、CVB3 ゲノムへの挿入部位の検討を体系的に行った。その結果、CVB3 ゲノムの VP4 の前、もしくは VP1 と 2A の間に GM-CSF 遺伝子を挿入することが適切であることが判明した。次に、VP1 と 2A の間に挿入する際、2A プロテアーゼ認識配列の必要アミノ酸の検討を行ったところ、MTNT/GAFGQQ を挿入した際 GM-CSF が安定的に発現し、CVB3-GM-CSF のウイルス産生も行われることが明らかとなった。さらに、ウイルス力価を上げるために、2A プロテアーゼ認識配列をポリオウイルス由来のものと置換したところ、ポリオウイルス由来 2A プロテアーゼ認識配列である LTTY/GAFGQQ を利用した方がウイルスの増殖が早く、高力価のウイルスが得られることが明らかとなった。最後に、更に高力価の CVB3-GM-CSF を産生するための遺伝子挿入部位を VP4 の前、もしくは VP1 と 2A の間で比較検討した。これまでに VP1 と 2A の間に挿入する際 CVB3-GM-CSF の作製が可能であった遊離方法 (2A プロテアーゼ認識配列、3C プロテアーゼ認識配列、2A ペプチド) を利用し、VP4 の前に GM-CSF 遺伝子を挿入したところ、ポリオウイルス由来 2A プロテアーゼ認識配列 LTTY/GAFGQQ を利用することで 2×10^8 TCID₅₀/ml のウイルスを産生することに成功し、野生型 CVB3 の 1/5 程度の力価低下で済み、既に Lim BK らにより報告がなされている CVB3-EGFP の場合と比較し、同程度の発現能を獲得できた。続いて、本 CVB3-GM-CSF を用いた *in vivo* 抗腫瘍効果の検討を行ったところ、CVB3-GM-CSF 投与群は CVB3-WT 投与群と比較して有意に腫瘍の退縮を認め、抗腫瘍効果増強 CVB3 の開発に成功し、エンテロウイルスで初の高効率 GM-CSF 発現ウイルスの作製を実現できた (図 6)。

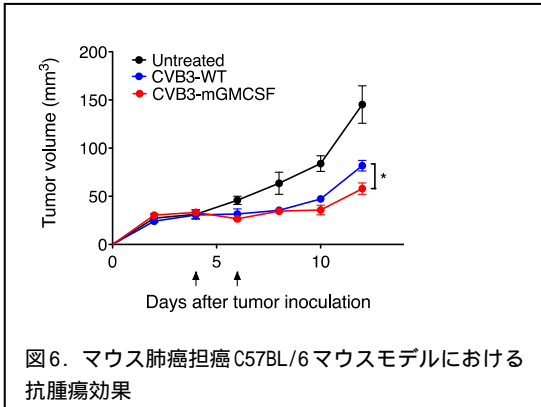


図 6. マウス肺癌担癌 C57BL/6 マウスモデルにおける抗腫瘍効果

In vitro において CVB3 感染による癌幹細胞様細胞 (Cancer Stem Like Cells : CSLC) 及び EMT 肺癌細胞への殺細胞効果について比較検討した。CSLC として SP 識別解析法を用いて分離した肺癌 A549 細胞由来 SP 細胞 (A549-SP) を、EMT 癌細胞として TGF- β での前処理により EMT を誘導した A549 細胞 (A549-EMT) を用いた。その結果、A549-SP 細胞は CVB3 感染に対しては非 SP 細胞 (A549-NSP) に比較して高感受性であったが、EMT 肺癌細胞に対しては非 EMT 肺癌細胞に比較して低感受性であった (図 7)。

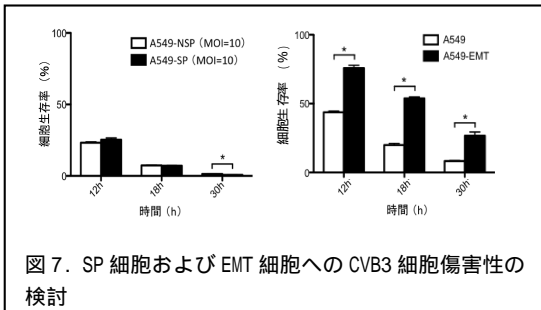


図 7. SP 細胞および EMT 細胞への CVB3 細胞傷害性の検討

このことから、CVB3 腫瘍溶解性ウイルス療法は癌幹細胞には極めて高い抗腫瘍効果を発揮する可能性が示唆され、本治療法は難治性悪性腫瘍へのアプローチの一つとなりうる。また、EMT 細胞は非 EMT 細胞と比較して CVB3 に対して低感受性であったが、18 時間後には半分が殺傷されており、EMT 細胞にも抗腫瘍効果が十分期待できる。

肺癌細胞以外を用いた *in vitro* 実験および *in vivo* 担癌マウスモデルにおいて、CVB3-WT および遺伝子改変 CVB3 は、乳癌細胞及び悪性中皮腫細胞を効率よく傷害した (図 8)。

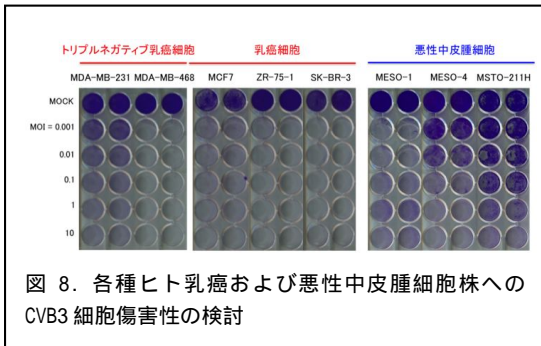


図 8. 各種ヒト乳癌および悪性中皮腫細胞株への CVB3 細胞傷害性の検討

更に乳癌担癌マウスモデルを用いて CVB3-miRT の *in vivo* 抗腫瘍効果を検討したところ、CVB3-miRT 投与群は未投与群と比較して有意に腫瘍の退縮を認めた。本実験により、CVB3 腫瘍溶解性ウイルス療法は、乳癌および悪性中皮腫に対しても適応を拡大できる可能性が示唆された。

(2) 前臨床試験に向けた GMP 準拠製剤の開発

医薬品医療機器総合機構からの助言を頂き、当初実施する予定であった CVB3-WT を用いた前臨床研究を一時中断し、安全性の向上した CVB3-WT の前臨床試験に計画を移行した。そして、医薬品医療機器総合機構からの助言により、まず臨床試験レベルでの試験物 (CVB3-miRT) 製造法の確立に努めた。GMP 準拠の試薬・機材を用いて、大量製造法の検討を行い、ガス透過性バッグを使用した無血清浮遊細胞培養を開発し、従来のウイルス製造方法の約 100 倍のウイルス回収法を確立した。さらに、閉鎖系での大量精製法の検討も行き、ゾーナルロータを用いた密度勾配超遠心法にて上記ウイルス量を一度に処理可能とした。本法により可能な限りヒューマンエラーを減らすことができ、前臨床研究に供することが可能な力価・品質を確保出来た (図 9)。

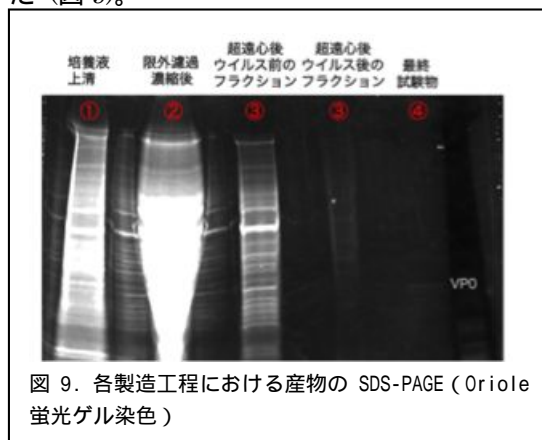


図 9. 各製造工程における産物の SDS-PAGE (Oriole 蛍光ゲル染色)

本研究で確立した製造法にて作製した試験物を用いて、現在品質試験及び安定性試験や、サル・マウスを用いた一般毒性試験を実施中である。

以上のように、本研究で開発した次世代腫瘍溶解性コクサッキーウイルス療法は、安全性、抗腫瘍免疫刺激性の向上を達成し、臨床研究実施に向けた GMP 準拠レベルの試験物の製造法を確立した。今後の品質試験、安定性試験および毒性試験を経て、本治療法は難治性悪性腫瘍の克服が可能な一つの選択肢となることを強く期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 21 件)*全て査読有り

- Hiramoto T, Ebihara Y, Mizoguchi Y, Nakamura K, Yamaguchi K, Ueno K, Nariai N, Mochizuki S, Yamamoto S, Nagasaki M, Furukawa Y, Tani K, Nakauchi H, Kobayashi M, Tsuji K. Wnt3a stimulates maturation of impaired neutrophils developed from severe congenital neutropenia

patient-derived pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:3023-3028, 2013.

- Kobayashi S, Tian Y, Ohno N, Yujji K, Ishigaki T, Isobe M, Tsuda M, Oyaizu N, Watanabe E, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaru K. The CD3 versus CD7 Plot in Multicolor Flow Cytometry Reflects Progression of Disease Stage in Patients Infected with HTLV-I. *PLoS ONE* 8:e53728, 2013
- Liao J, Marumoto T, Yamaguchi S, Okano S, Takeda N, Sakamoto C, Kawano H, Nii T, Miyamoto S, Nagai Y, Okada M, Inoue H, Kawahara K, Suzuki A, Miura Y, Tani K. Inhibition of PTEN tumor suppressor promotes the generation of induced pluripotent stem cells. *Mol Ther* 21:1242-1250, 2013
- Kurita R, Suda N, Sudo K, Miharada K, Hiroyama T, Miyoshi H, Tani K, Nakamura Y. Establishment of immortalized human erythroid progenitor cell lines able to produce enucleated red blood cells. *PLoS ONE* 8:e59890, 2013
- Chen M-H, Soda Y, Izawa K, Kobayashi S, Tani K, Maruyama K, Tojo A, Asano S. A versatile drug delivery system using streptavidin-tagged pegylated liposomes and biotinylated biomaterials. *Int J Pharm* 454:478-485, 2013
- Somada S, Muta H, Nakamura K, Sun X, Honda K, Ihara E, Akiho H, Takayanagi R, Yoshikai Y, Podack E.R, Tani K. CD30 Ligand/CD30 Interaction is involved in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci* 57: 2031-2037, 2012
- Hamada K, Yoshihara C, Ito T, Tani K, Tagawa M, Sakuragawa N, Ito H, Koyama Y. Antitumor effect of chondroitin sulfate-coated ternary granulocyte macrophage-colony-stimulating factor plasmid complex for ovarian cancer. *J Gene Med* 14:120-127, 2012
- Miyamoto S, Inoue H, Nakamura T, Yamada M, Sakamoto C, Urata Y, Okazaki T, Marumoto T, Takahashi A, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Coxsackievirus B3 is an oncolytic virus with immunostimulatory properties that is active against lung adenocarcinoma. *Cancer Res* 72:2609-21, 2012
- Mizuochi C, Hirio Y, Blasch K, Kikushige Y, Tani K, Akashi K, Tavian M, Sugiyama D. Intra-aortic clusters undergo endothelial to hematopoietic phenotypic changes in early embryogenesis. *PLoS ONE* 7: e35763, 2012
- Nunomura S, Shimada S, Kametani Y, Yamada Y, Yoshioka M, Suemizu H, Ozawa M, Itoh T, Kono A, Suzuki R, Tani K, Ando K, Yagita H, Ra C, Habu S, Satake M, Sasaki E. Double expression of CD34 and CD117 on bone marrow progenitors is a hallmark of the development of functional mast cell of *Callithrix jacchus* (common marmoset). *Int Immunol* 24:593-603, 2012
- Yokota Y, Inoue H, Matsumura Y, Nabeta H, Narusawa M, Watanabe A, Sakamoto C, Hijikata Y, Iga-Murahashi M, Takayama K, Sasaki F, Nakanishi Y, Yokomizo T, Tani K. Absence of LTB4/BLT1 axis facilitates generation of mouse GM-CSF-induced long-lasting antitumor immunological memory by enhancing innate and adaptive immune systems. *Blood* 120:3444-3454, 2012
- Zhang T, Hamada K, Hyodo M, Itoh H, Tani K, Goda H, Nakashiro K, Hamakawa H. Gene therapy for oral squamous cell carcinoma with IAL3B promoter-driven oncolytic adenovirus-infected carrier cells. *Oncol Rep* 25:795-802, 2011
- Tian Y, Kobayashi S, Ohno N, Isobe M, Tsuda M, Zaike Y, Watanabe N, Tani K, Tojo A, Uchimaru K. Leukemic T cells are specifically enriched in a unique CD3(dim) CD7(low) subpopulation of CD4(+) T cells in acute-type adult T-cell leukemia. *Cancer Sci* 102: 569-577, 2011

14. Inoue T, Kulkeaw K, Okayama S, Tani K, Sugiyama D. Variation in mesodermal and hematopoietic potential of adult skin-derived induced pluripotent stem cell lines in mice. *Stem Cell Rev.* 7:958-968, 2011
15. Maeda T, Kurita R, Yokoo T, Tani K, Makino N. Telomerase inhibition promotes an initial step of cell differentiation of primate embryonic stem cell. *Biochem Biophys Res Commun.* 407:491-494, 2011
16. Takahashi A, Tokita H, Takahashi K, Takeoka T, Murayama K, Tomotsune D, Ohira M, Iwamatsu A, Ohara K, Yazaki K, Koda T, Nakagawara A, Tani K. A novel potent tumour promoter aberrantly overexpressed in most human cancers. *Sci Rep.* 1:15, 2011

〔学会発表〕(計 26 件)

1. Miyamoto S, Inoue H, Sagara M, Wang B, Takayama K, Shimizu H, Nakanishi Y, Tani K. Dual microRNA-regulated oncolytic coxsackievirus B3 infection displays antitumor activity with attenuated pathogenicity in mice. The 16th Annual Meeting of American Society of Gene and Cell Therapy. Salt Lake City, UT, May 15-18, 2013
2. Sagara M, Inoue H, Miyamoto S, Sakamoto C, Nakano Y, Takayama K, Shimizu H, Nakanishi Y, Tani K. CVB3 infection elicits potent oncolytic activity against lung cancer stem cells. The 16th Annual Meeting of American Society of Gene and Cell Therapy. Salt Lake City, UT, May 15-18, 2013
3. Miyamoto S, Inoue H, Sagara M, Wang B, Takayama K, Shimizu H, Nakanishi Y, Tani K. MicroRNA-targeted coxsackievirus B3 infection markedly reduces its pathogenicity retaining oncolytic activity. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2013
4. Sagara M, Inoue H, Miyamoto S, Sakamoto C, Nakano Y, Takayama K, Shimizu H, Nakanishi Y, Tani K. CVB3 infection displays different oncolytic activities against cancer stem cells and cancer cells undergoing EMT. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2013
5. Inoue H, Yasunari K, Wang B, Miyamoto S, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Infection with Echovirus 4 elicits potent oncolytic activity against cisplatin-resistant esophageal carcinoma. 第 72 回日本癌学会学術総会, 横浜, 2013
6. Inoue H, Yasunari K, Sakamoto A, Miyamoto S, Nosaki K, Matsumura Y, Nakamura T, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Genetically engineered Measles virus Edmonston strain expressing the wild-type N, P, L Genes (MV-NPL) is a promising oncolytic virotherapy agent against lung cancer stem cells. American Society of Gene and Cell Therapy, 15th Annual Meeting, Philadelphia, 2012
7. Miyamoto S, Inoue H, Wang B, Yasunari K, Nakamura T, Yamada M, Urata Y, Marumoto T, Takahashi A, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Coxsackievirus B3 is an immunostimulatory oncolytic virus active against lung adenocarcinoma. American Association of Cancer Research, 103rd Annual Meeting, Chicago, 2012
8. Inoue H, Hijikata Y, Yasunari K, Sakamoto A, Miyamoto S, Nosaki K, Matsumura Y, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Genetically engineered oncolytic Edmonston strain of measles virus harboring the wild-type N, P, L Genes (MV-NPL) effectively target lung cancer stem cells. American Association of Cancer Research, 103rd Annual Meeting, Chicago, 2012
9. Yasunari K, Inoue H, Miyamoto S, Wang B, Urata U, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Oncolytic Echovirus 4 as a potent virotherapy agent against human esophageal squamous cell carcinoma. American Society of Gene and Cell Therapy, 15th Annual Meeting, Philadelphia, 2012
10. Miyamoto S, Inoue H, Wang B, Yasunari K,

- Sakamoto C, Narusawa M, Nakamura T, Yamada M, Urata Y, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Immunostimulatory coxsackievirus B3 as a potent oncolytic agent against non-small cell lung carcinoma. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012
11. Inoue H, Yasunari K, Miyamoto S, Matsumura Y, Nosaki K, Sakamoto A, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Novel engineered oncolytic measles virus shows oncolytic activity against non-small cell lung cancer stem cells. 第 71 回日本癌学会学術総会, 札幌, 2012
12. Miyamoto S, Inoue H, Wang B, Sakamoto C, Narusawa M, Nakamura T, Yamada M, Urata Y, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Coxsackievirus B3 is an immunostimulatory oncolytic virus active against lung adenocarcinoma. 第 18 回日本遺伝子治療学会, 熊本, 2012
13. Inoue H, Sakamoto A, Yasunari K, Miyamoto S, Matsumura Y, Nosaki K, Takayama K, Nakanishi Y, Tani K. Novel engineered oncolytic Edmonston strain of measles virus elicits remarkable oncolytic activity against non-small cell lung cancer stem cells. 第 18 回日本遺伝子治療学会, 熊本, 2012
14. Inoue H, Miyamoto S, Nakamura T, Yamada M, Urata Y, Okazaki T, Marumoto T, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Large-Scale Screening Identifies Coxsackievirus B3 (CVB3) as a Promising Oncolytic Virotherapy Agent against Non-Small Cell Lung Cancer. European Society for Gene and Cell Therapy, Brighton, 2011
15. Inoue H, Miyamoto S, Yamada M, Nakamura T, Wang B, Nosaki K, Urata Y, Takayama K, Nakanishi Y, Shimizu H, Tani K. Characterization of replication competent coxsackievirus B3 with oncolytic capacity against non small lung cancer cells. 第 70 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2011

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：遺伝子改変コクサッキーウイルス
 発明者：谷 憲三郎
 権利者：九州大学
 種類：特許
 番号：PCT/JP2014/060988
 出願年月日：2014 年 4 月 17 日
 国内外の別：国外

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷 憲三郎 (TANI, Kenzaburo)
 九州大学・生体防御医学研究所・教授
 研究者番号：00183864

(2) 連携研究者

清水 博之 (SHIMIZU, Hiroyuki)
 国立感染症研究所・ウイルス第 2 部・室長
 研究者番号：90270644