

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 13 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791650

研究課題名(和文) 尿路性器癌における自己癌ワクチン化療法と放射線療法併用に関する基盤研究

研究課題名(英文) Basic research for the autologous cancer vaccination- and radiation-combined therapy for urogenital cancers.

研究代表者

小林 泰之 (Kobayashi, Yasuyuki)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：50366027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：進行性尿路性器癌においては、放射線治療と自己癌ワクチン化療法としてのREIC遺伝子治療を併用することにより、全身的な抗腫免疫を誘導し、制癌効果をもたらすことが期待される。本申請研究では、当該戦略に基づく新規の治療法に関する基盤研究を行った。その過程で、Ad-REIC治療剤を用いたこれまでの我々の経験を基に、液体性の治療薬剤を局所で広範囲に拡散可能な技術に関する研究を実施した。

研究成果の概要(英文)：The first in-human clinical study, a Phase I/IIa study of in situ Ad-REIC gene therapy for prostate cancer, is currently performed in our department. Using the Ad-REIC as a new form of therapeutic cancer vaccine, the effects of autologous cancer vaccination via cancer-specific apoptosis and anticancer immune upregulation is evaluated as the therapeutic mechanism. On the other hands, the combination therapy with radiation and Ad-REIC agent could be promising for the treatment of progressive urogenital cancers. We herein conducted a basic research for the development of novel therapeutic methods. In addition, we performed the experiments as for a novel method for achieving widespread intratissue distribution of the infusate by permeating it in situ.

研究分野：医歯薬学

キーワード：前立腺癌 放射線治療 ワクチン 注入法

1. 研究開始当初の背景

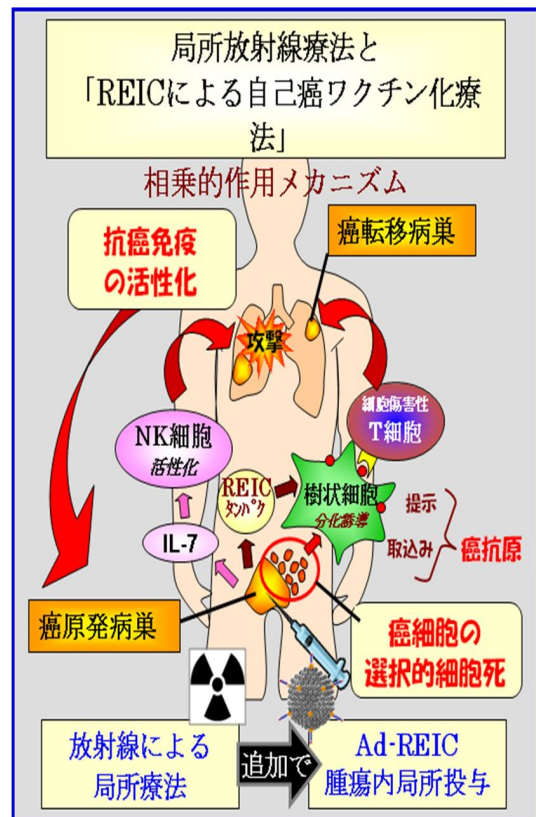
早期前立腺癌の治療はその治療成績からみてほぼ完成の域に達したと言って過言ではない。現在もなお死亡率が高い進行期前立腺癌の治療成績の向上が、今後の前立腺癌治療の主眼となっていくことは疑いようのない事実である。

局所進行性前立腺癌に対する治療としては、放射線照射が最も標準的な治療となりつつある。放射線照射の技術も向上し、前立腺局所に高線量を照射できるツールも出現してきた。しかし、こうした技術の向上にもかかわらず、転移・再発率が高いのが現状である。つまり、局所進行性前立腺癌の病態は、前立腺局所の広範な腫瘍の浸潤のみならず、すでに全身への微小な転移を伴った状態、転移性前立腺癌と同じ病態であると考えるのが現実的である。よって前立腺局所にいかに高線量の放射線を照射しようとも、全身的な制癌効果が乏しい。

この現状を打破するための治療法の確立が本研究の背景である。つまり放射線治療の局所効果のみならず、免疫誘導効果に着目し、そこにわれわれがすでにノウハウを有する新規遺伝子治療を併用することで、従来制御不能であった進行性前立腺癌の制癌効果を高めようとする目的である。この治療が現実的になれば、すでに転移を有する癌に対しても、免疫療法を組み合わせることで局所の放射線治療が有効となるという、いわばパラダイムシフトが起こる可能性がある。

放射線照射による前立腺局所の抗腫瘍効果は明白であるが、さらに照射した腫瘍細胞表面に MHC、FAS、ICAM-1 などのマーカーが表出されやすくなり、T 細胞による腫瘍細胞への攻撃を誘導することがわかっている (Cancer Res. 2004, 64:4328-37.)。また放射線照射によって腫瘍崩壊が生じ、癌特異抗

原が全身に放出され、いわば感作状態となる (Clin Cancer Res. 2010, 16:4046-56.)。この状態をうまく利用し、全身の癌特異的免疫活性を誘導する免疫療法を併用すれば劇的な制癌効果をもたらすのではないかということが本研究の着想に至った経緯である。われわれは癌抑制遺伝子 REIC (Reduced Expression in Immortalized Cells) を発現するアデノウイルス (Ad-REIC) の腫瘍局所投与による抗腫瘍効果についての知見を積み上げており、臨床研究の段階にまで至っている。Ad-REIC 剤を、前立腺局所への注入により局所の癌細胞選択的アポトーシスが起こるのみならず、全身効果としての抗癌細胞免疫の活性化が起こる。この機序として、発現した REIC タンパク質により単球から癌抗原提示能を持つ樹状細胞様の細胞が分化誘導され、抗癌性をもつ CTL リンパ球が活性化されたことが考えられる (Int J Oncol. 2009, 34(3):657-63.)。また、Ad-REIC 投与により正常細胞から IL-7 が分泌誘導され、抗癌作用を持つ NK 細胞が活性化されることも証明



されている (J Biol Chem. 2009, 284(21):14236-44.)。つまり、放射線治療と Ad-REIC の併用は局所のみならず、全身的な相乗効果が十分予想される。

さらに、我々は、Ad-REIC 剤等の治療薬剤を如何に局所病巣へ注入するかが、その治療効果を決定的に左右することを見出しており、今回の研究では、尿路性器癌における自己癌ワクチン化療法の治療効果を改善させるような新規薬剤注入法についても研究を実施した。

2 . 研究の目的

進行性尿路性器癌において、放射線治療と自己癌ワクチン化療法を併用することにより、全身的な抗癌免疫を誘導し、劇的な制癌効果をもたらす新規の治療法に関する基盤研究を行う。また、Ad-REIC 治療剤を用いたこれまでの我々の経験を基に、液体性の治療薬剤を局所で広範囲に拡散可能な技術に関する研究の実施を目的とした。特に、病変部に注入した液体を当該注入位置の付近で拡散・制御させるための浸透装置および注入装置に関する研究を併せて実施した。このことにより、局所放射線治療による抗腫瘍効果に、Ad-REIC 剤局所投与による抗癌免疫療法を上乗せすることで、これらの抗腫瘍効果において高い相乗効果を生むことが可能となると考えられる。より具体的には、我々が開発し、既に臨床研究の段階に至っている Ad-REIC 剤やコントロールとしての抗腫瘍薬剤を、マウスやハムスターを用いた実験系において局所投与することにより、Ad-REIC 等薬剤による抗癌活性が増強される為の条件検討を行った。これらの技術を用いることにより、放射線治療と Ad-REIC 剤の組み合わせによる局所癌の制御に加え、全身的にも免疫学的相乗

効果を生むことが期待される。

3 . 研究の方法

まず Ad-REIC 剤による抗癌免疫誘導効果を確認するために、尿路性器癌の各種細胞を用いた *in vitro* 実験と、担癌マウスを用いた *in vivo* 治療実験を行った。

REIC を用いた *in vitro* 実験において、抗癌免疫に關与する CD 抗原、サイトカイン分泌等の分子動態を解析した。

in vivo 実験では、*in vitro* の実験を基に、放射線治療と Ad-REIC 剤の併用による抗癌免疫誘導効果を検証し、さらにこれらの治療による相乗効果を高める条件を明らかにする。

ハムスター癌皮下腫瘍モデルの確立と、当該腫瘍局所で薬剤を拡散・制御させるための浸透装置および注入装置に関する研究を実施した。

4 . 研究成果

REIC 遺伝子治療による抗癌免疫誘導効果に着目し、REIC 遺伝子治療と放射線治療とを併用することで従来制御不能であった進行性前立腺癌の制癌効果を高めようとするのが本研究の目的である。今回、REIC 遺伝子をコードしたアデノウイルスベクター (Ad-REIC) 剤を用いて、*in vitro*、*in vivo* にて研究を行った。また、これまでに癌由来細胞株において、Ad-REIC 剤の添加と放射線照射 (Gy) の併用による cell viability アッセイについて、実験条件の検討を行って

る。さらに平成 26 年度は、担癌マウス・ハムスターモデルに Ad-REIC 剤を腫瘍内投与する in vivo 解析を実施する為、種々のマウス・ハムスター由来癌細胞における Ad-REIC の感受性試験、および腫瘍形成能の解析を行った。

また、本申請研究では、尿路性器癌における自己癌ワクチン化療法と放射線療法の併用効果を最大限に引き出す為に、液体性の治療薬剤を局所で広範囲に拡散可能な技術に関する研究を併せて実施した。

これまでに生体組織内に薬液を直接注入する薬剤投与方法による疾患の治療が数多く報告されている。この方法により薬剤が周辺組織に浸透および拡散していく機序には、「物質の拡散」と「液体の流動」の 2 つがあると報告されており、前者は物質の濃度勾配に基づく当該物質の拡散であり、後者は薬液を注入した局所での圧の上昇による当該薬液の周囲への流動であると考えられる。

実際に臨床の場において、脳の悪性腫瘍内に抗癌剤等の薬剤を直接投与したり、肝臓に発生した癌病巣に無水エタノールや 5 0 %酢酸を注入して、それぞれの腫瘍の増殖を抑制する治療法が実施されている。また、泌尿器科領域では、前立腺肥大症に対して前立腺内に無水エタノールを直接注入し前立腺を縮小させる治療法が実施されている。これらの局所に薬剤を直接注入する治療法では、一定の成果が上がっている一方、その薬剤投与方法自体には課題も少なくない。原則として薬剤を入れっぱなしであることから、薬剤を注入した部位において急激に上昇する局所の圧を制御することが出来ない為、「薬液の刺入針を伝った外部へのバックフロー」、「意図しない部位への薬液の漏れ」、「不均一な薬液の広がり」といった問題も発生する。これらは、当該治療法による疾患の治療効果に重大な影響を与える問題であり、解決が望まれている。今回の研究では、従来の液性薬剤注入技

術におけるこれらの欠点を改善するような浸透装置および注入装置を用いた新規の薬剤注入法の開発を実施し、各種条件検討等により成果を得た。

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 1 件)

Tanimoto R, Bekku K, Katayama N, Kobayashi Y, Ebara S, Araki M, Takemoto M, Yanai H, Nasu Y, Kumon H.

Predictive factors for acute and late urinary toxicity after permanent interstitial brachytherapy in Japanese patients, Int J Urol, 20(8):812-7, 査読有, 2013.

DOI: 10.1111/iju.12050.

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他]

特に無し

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小林 泰之 (KOBAYASHI YASUYUKI)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：50366027

(2)研究分担者

無し

(3)連携研究者

無し