

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293323

研究課題名(和文)新規p53発現腫瘍融解アデノウイルスがもたらす化学療法・放射線療法ブースト効果

研究課題名(英文)p53-expressing oncolytic adenovirus enhances the anti-tumor effect of chemotherapy and radiotherapy

研究代表者

尾崎 敏文(Ozaki, Toshifumi)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授

研究者番号：40294459

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)：骨・軟部肉腫に対する治療は大きな進歩を遂げているが、化学療法や放射線療法に抵抗性で予後不良となる症例が存在する。我々はp53発現腫瘍融解アデノウイルス製剤(OBP-702)が骨肉腫に対して強力な抗腫瘍効果を示すことを既に明らかにした。本研究では、骨・軟部肉腫に対するOBP-702と化学療法・放射線療法との併用効果を評価した。OBP-702を化学療法・放射線療法と併用することにより抗腫瘍効果の増強を示した。

研究成果の概要(英文)：Despite major advances in the treatment of bone and soft tissue sarcomas, some patients show a poor response to chemotherapy and radiotherapy, leading to a poor prognosis. We recently developed the p53-expressing oncolytic adenovirus, OBP-702. And we confirmed OBP-702 effectively killed human osteosarcoma cells. In the present study, we evaluated the efficacy of combined treatment with OBP-702 and chemotherapy or radiotherapy on human bone and soft tissue sarcoma cells. OBP-702 enhanced the anti-tumor effect of chemotherapy and radiotherapy.

研究分野：骨軟部腫瘍

キーワード：ウイルス治療 骨軟部肉腫 p53 化学療法 放射線療法

1. 研究開始当初の背景

骨・軟部肉腫症例に対しては外科的な切除が最も重要な治療方法であるが、それに加えて高悪性度症例では化学療法が行われることが多く、さらに放射線療法が追加されることもある。このような集学的治療の進歩にもかかわらず、腫瘍切除不能例や化学・放射線療法抵抗性の予後の悪い症例が存在しており、近年の骨・軟部肉腫全体の5年生存率は60-70%にとどまる。そのため、難治性の骨・軟部肉腫に対する新たな治療法の確立が重要な課題である。

我々は、がん細胞の高いテロメラーゼ活性に依存して増殖する腫瘍融解アデノウイルスを開発し、様々な癌腫や骨・軟部肉腫に対して強力な抗腫瘍活性を示す事を明らかにした。この腫瘍融解アデノウイルスを用いたウイルス療法は、既に米国にて第Ⅲ相臨床試験による安全性の確認が終了している。現在岡山大学で食道癌に対する放射線療法との併用治療として第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験が行われており、今後は骨・軟部肉腫においても臨床試験を行う予定である。さらに、我々はがん抑制因子の一つとして知られるp53を発現させた腫瘍融解アデノウイルス(OBP-702)を開発し、骨・軟部肉腫や他の癌腫に対して腫瘍細胞特異的かつ強力な抗腫瘍効果をもたらすことを報告している。

2. 研究の目的

骨・軟部肉腫患者の中には、化学療法や放射線療法抵抗性を示し、予後不良となる症例が存在する。そのため、化学療法や放射線療法抵抗性の克服は重要な課題である。

本研究では、骨・軟部肉腫に対するOBP-702と化学療法や放射線療法との併用効果の評価を目的とする。

3. 研究の方法

(1) *in vitro* での骨・軟部肉腫細胞および

ヒト正常線維芽細胞に対する OBP-702 単独での細胞障害活性を XTT assay により検討した。

(2) *in vitro* での骨・軟部肉腫細胞に対する化学療法・放射線療法と OBP-702 の併用効果の検討：無治療群、化学療法・放射線療法単独群、OBP-702 単独群、併用群の4群に分けて骨・軟部肉腫細胞を処理し、XTT assay を行った。無治療群に対する relative cell viability を算出することにより、抗腫瘍効果を比較検討した。

(3) 骨・軟部肉腫細胞に対する化学療法・放射線療法と OBP-702 の併用処理における細胞死関連シグナルの検討：ウエスタンブロット法で Cleaved-PARP の発現を確認することによりアポトーシスの評価を行った。

4. 研究成果

(1) *in vitro* での骨・軟部肉腫細胞およびヒト正常線維芽細胞に対する OBP-702 単独での細胞障害活性：OBP-702 は骨・軟部肉腫細胞に対して抗腫瘍効果を示した。一方、ヒト正常線維芽細胞に対しては細胞障害活性をほとんど認めなかった。

(2) *in vitro* での骨・軟部肉腫細胞に対する化学療法と OBP-702 の併用効果：化学療法と OBP-702 の併用治療は化学療法単独治療と比較してより強力な抗腫瘍効果を示した。

(3) *in vitro* での骨・軟部肉腫細胞に対する放射線療法と OBP-702 の併用効果：放射線療法と OBP-702 の併用治療は放射線療法単独治療と比較してより強力な抗腫瘍効果を示した。

(4) 骨・軟部肉腫細胞に対する化学療法と OBP-702 の併用処理におけるアポトーシスの評価：化学療法と OBP-702 を併用することにより化学療法単独治療と比較して、アポトーシスの増強を認めた。

これらの結果から、OBP-702 と化学療法・放射線療法の併用治療は骨・軟部肉腫に対する新たな治療戦略となり得ることが示唆された。

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 1 件)

1. Yoneda Y, Ito S, Kunisada T, Morimoto Y, Kanzaki H, Yoneda A, Shimizu K, Ozaki T, Ouchida M. Truncated SSX protein suppresses synovial sarcoma cell proliferation by inhibiting the localization of SS18-SSX fusion protein. PLoS One. e77564, 2013. (査読あり)

[学会発表](計 11 件)

1. Sugiu K, Tazawa H, Hasei J, Osaki S, Yamakawa Y, Omori T, Komatsubara T, Uotani K, Fujiwara T, Kunisada T, Urata Y, Fujiwara T, Ozaki T. Combination treatment with doxorubicin and tumor-specific p53-expressing oncolytic adenovirus in doxorubicin-resistant osteosarcoma cells, Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting, Orland(USA), 2016年3月5日~8日
2. 杉生和久、小松原 将、大森敏規、山川泰明、吉田晶、藤原智洋、武田健、国定俊之、田澤大、藤原俊義、尾崎敏文: 骨肉腫に対する化学療法と p53 発現腫瘍融解アデノウイルス治療の併用効果, 第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会, 富山, 2015 年 10 月 22 日~23 日
3. 杉生和久、田澤大、長谷井嬢、尾崎修平、山川泰明、大森敏規、小松原将、魚谷弘二、藤原智洋、国定俊之、浦田泰生、尾崎敏文、藤原俊義: 骨肉腫に対するドキソルビシンと p53 発現腫瘍融解アデノウイルス製剤の併用療法, 第 74 回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2015 年 10 月 8 日~10 日
4. 尾崎修平、田澤大、長谷井嬢、山川泰明、佐々木剛、大森敏規、吉田晶、国定俊之、藤原俊義、尾崎敏文: 腫瘍融解アデノウイルスは抗アポトーシス因子 Mcl-1 の発現抑制を介して化学療法によるアポトーシス誘導を増強する, 第 29 回日本整形外科学会基礎学術集会, 鹿児島, 2014 年 10 月 9 日~10 日
5. 尾崎修平、田澤大、長谷井嬢、山川泰明、佐々木剛、大森敏規、吉田晶、国定俊之、藤原俊義、尾崎敏文: 抗アポトーシス因子 Mcl-1 の発現抑制を介した腫瘍融解アデノウイルスの骨肉腫における抗がん剤感受性亢進作用, 第 47 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 大阪, 2014 年 7 月 17 日~18 日
6. Osaki S, Omori T, Tazawa H, Hasei J, Yamakawa Y, Sasaki T, Kunisada T, Urata Y, Ozaki T, Fujiwara T. Telomerase-dependent oncolytic adenovirus sensitizes human osteosarcoma cells to chemotherapy through Mcl-1 downregulation. Annual Meeting of American Association for Cancer Research, San Diego(USA), 2014 年 4 月 5 日~9 日
7. 長谷井嬢、佐々木剛、田澤大、尾崎修平、山川泰明、国定俊之、橋本悠里、浦田泰生、尾崎敏文、藤原俊義: p53 武装化腫瘍融解アデノウイルスはヒト骨肉腫細胞に 2 種類のプログラム細胞死を誘導する. 第 73 回日本癌学会学術

- 総会,横浜, 2013年10月3日~5日
8. 国定俊之、長谷井嬢、佐々木剛、田澤大、尾崎修平、山川泰明、浦田泰生、藤原俊義、尾崎敏文: 骨・軟部肉腫に対するテロメラゼ特異的制限増殖アデノウイルス療法. 第73回日本癌学会学術総会,横浜, 2013年10月3日~5日
 9. 長谷井嬢、佐々木剛、田澤大、尾崎修平、山川泰明、国定俊之、浦田泰生、藤原俊義、尾崎敏文: 武装化腫瘍融解アデノウイルスは OBP-301 抵抗性骨肉腫細胞株に microRNA を介し効率にアポトーシスを誘導する. 第46回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会, 東京, 2013年7月12日~13日
 10. Hasei J, Sasaki T, Tazawa H, Hashimoto Y, Kunisada T, Urata Y, Ozaki T, Fujiwara T. Oncolytic adenovirus-armed p53 induces apoptosis significantly through upregulating miR-93 and 106b in human osteosarcoma cells. Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington DC(USA), 2013年4月6日~10日
 11. Osaki S, Sasaki T, Tazawa H, Hasei J, Yamakawa Y, Kunisada T, Urata Y, Ozaki T, Fujiwara T. Enhanced chemosensitivity of osteosarcoma cells by telomerase-specific oncolytic adenovirus in combination therapy. Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Washington DC(USA), 2013年4月6日~10日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 出願年月日:
 国内外の別:

取得状況(計 0 件)

名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 取得年月日:
 国内外の別:

〔その他〕
 ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

尾崎 敏文 (OZAKI TOSHIFUMI)
 岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授
 研究者番号: 40294459

(2) 研究分担者

国定 俊之 (KUNISADA TOSHIYUKI)
 岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・准教授
 研究者番号: 80346428

藤原 俊義 (FUJIWARA TOSHIYOSHI)
 岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・教授
 研究者番号: 00304303

(3) 連携研究者

古松 毅之 (FURUMATSU TAKAYUKI)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：20432651

武田 健 (TAKEDA KEN)

岡山大学・医歯(薬)学総合研究科・助教

研究者番号：70614923