

令和元年10月2日現在

機関番号：15101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26640103

研究課題名(和文) 癌特異的かつ全身的な効果を併せ持つ癌ウイルス療法の新戦略

研究課題名(英文) Tumor-specific and Systemic Oncolytic Vaccinia Virus for Novel Cancer Therapy

研究代表者

中村 貴史 (Nakamura, Takafumi)

鳥取大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70432911

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)： 現在世界中において、生きたウイルスを利用して癌を治療する癌ウイルス療法に関する臨床試験が積極的に行われている。これは、ウイルスが本来持っている癌細胞に感染後、癌組織内で増殖しながら死滅させるという性質を利用する方法である。

本研究では、ワクシニアウイルスを遺伝子組換え技術によって改良を加え、腫瘍のみを標的破壊するspecific(癌組織に特異的)な効果と、1)ウイルスの形態形成と感染の制御に基づくウイルス腫瘍集積性の向上、2)ウイルスと生体免疫反応の制御に基づく抗腫瘍免疫の誘導・増強により、転移した癌も標的破壊できるようにsystemic(全身的)な効果を併せ持たせる新戦略を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現行の治療法に対して極めて高い抵抗性を示し、容易に他臓器に転移する難治性進行癌に対する新規治療法の確立が望まれている。学術的意義は、宿主の免疫を逃れながら血中を介して全身に伝播できるワクシニアウイルス独自の特性を利用し、動物実験においてウイルスの腫瘍集積性の向上を実証したことや、癌免疫療法との併用による抗癌効果の増強に成功したことにある。社会的意義は、癌特異的かつ全身的な効果を併せ持つ癌ウイルス療法の確立を目指した本研究を起点に、本成果が新たながん治療法開発の第一歩となったことにある。

研究成果の概要(英文)： Oncolytic viruses are promising therapeutic agents for cancer and are currently under clinical investigation. The virotherapy is novel strategy that viruses infect and replicate within tumor cells, directly lysing and killing them.

In this study, we focus on highly attenuated vaccinia virus which was used for small pox vaccine. However, the vaccinia virus still has property of partial replication in normal cells. Therefore, the vaccinia virus has genetically been engineered in order to not only completely inhibit pathogenic viral replication in normal cells without impairing its therapeutic replication in tumor cells, but also 1) improve viral tumor-homing through regulation of viral morphogenesis and infection and 2) enhance anti-tumor immunity via control of the biological immune response in the tumor microenvironment. Thus, the recombinant oncolytic vaccinia virus achieved tumor-specific and systemic anti-tumor effects in mouse tumor models.

研究分野：腫瘍治療学

キーワード：癌 ウイルス療法 遺伝子治療 抗腫瘍免疫

1. 研究開始当初の背景

癌ウイルス療法の研究は、1900年代の初めころから始まり、日本でもムンプスウイルスを使つての臨床研究が試みられていた。しかし当時は、野生型に近いウイルスを投与していたので、安全性の点から問題があり、新しい治療法として確立・定着するには至らなかった。ところが最近、遺伝子工学技術や、ウイルス及び癌の分子病態解析が発展し、ウイルスが元来持っている正常組織に対する病原性を排除し、ウイルスを癌細胞だけで増殖させることが可能になった。これより、欧米を中心に現在世界中において、生きたウイルスを利用して癌を治療する癌ウイルス療法に関する前臨床研究、及び臨床治験が積極的に行われている。

ワクシニアウイルスは、1) 様々な種類の腫瘍細胞に効率よく感染でき、2) 非常に早い増殖・溶解サイクルを持つため、強い腫瘍溶解性を発揮し、3) 血中を介して転移した全身のがんに到達できる特性を持っている。これらのがんウイルス療法における利点に注目し、遺伝子組換え技術によりさらなる改良を加えることによって、がん細胞特異的に増殖し破壊する遺伝子組換えワクシニアウイルス(MDRVV)の独自開発に成功した。

2. 研究の目的

癌は日本における死亡原因でもっとも多い病気である。特に現行の治療法に対して極めて高い抵抗性を示し、容易に他臓器に転移する難治性進行癌に対しては新規治療法の確立が望まれている。

癌ウイルス療法は、感染した細胞・組織内で増殖伝播しながらそれらを死滅させるウイルス本来の性質(腫瘍溶解性)を癌治療に利用する方法である。その作用機序は、第一に感染したがん細胞・組織内で増殖伝播しながら、それらをアポトーシスやネクローシスを介して溶解死滅させる。第二にウイルス増殖による腫瘍溶解のみならず、それに伴う抗腫瘍免疫の誘導など多様な作用機序によって抗腫瘍効果を発揮する。

本研究の目的は、このMDRVVのspecific(癌組織に特異的)な効果に加え、1) ウイルスの形態形成と感染の制御に基づくウイルス腫瘍集積性の向上、2) ウイルスと生体免疫反応の制御に基づく抗腫瘍免疫の誘導・増強により、転移した癌も標的破壊できるようにsystemic(全身的)な効果を併せ持たせることである。

3. 研究の方法

(1) 相同組換え法により、ウイルス蛋白を改良した組換えウイルスを作製した。MDRVVをコントロールとし、この形態形成制御型MDRVVを様々なヒト正常細胞、ヒト腫瘍細胞に感染させ、その後のウイルス増殖能、及び細胞内成熟ウイルス(IMV)と細胞外性被覆ウイルス(EEV)産出性から形態形成能を解析

した。

(2) ワクシニアウイルスで免疫したウサギから調製した血清を用いて、形態形成制御型MDRVVの免疫回避能を評価した。

(3) 相同組換え法により、様々な免疫制御遺伝子を発現するようにMDRVVゲノムに挿入した免疫制御型ウイルスを作製した。マウス大腸癌細胞株MC38を同系C57BL/6マウスの両側の皮下に移植した担癌モデルマウスにおいて、生理食塩水、MDRVV、又は各免疫制御型MDRVVを右側の腫瘍にのみ投与することによって抗腫瘍効果を比較検討した。

(4) ヒト癌細胞の腹膜播種モデルマウスにおいて、ウサギ抗ワクシニア血清の投与により擬似的な免疫保持状態を作出した。本モデルにおいて、MDRVVと比較して形態形成制御型MDRVVの免疫回避能、腫瘍集性、及び抗腫瘍効果を評価した。

4. 研究成果

(1) 特定の癌種では7種類の中で5つの細胞株において、両者のウイルスでIMVの産出に差がないにもかかわらず、血中を介して全身に伝播できる性質を持つEEVの産出は、MDRVVと比べ形態形成制御型MDRVVにおいて著明な上昇が確認された。

(2) MDRVVのEEVと比較して、形態形成制御型MDRVVのEEVでは中和反応回避能が高いことを確認した。

(3) インターロイキン12(IL12)を発現するように組込んだMDRVV-IL12は、投与した腫瘍だけではなく投与しない腫瘍の増殖も、最も有意に抑制することを見出した。

(4) MDRVVと比較して形態形成制御型MDRVVは、EEVの元来有している中和抗体からの免疫回避能力を向上させることで腫瘍集積性を向上させ、その結果、抗腫瘍効果を増強させた。

以上より、specific(癌特異的)な効果とsystemic(全身的)な効果を併せ持つ癌ウイルス療法の新戦略を確立した。

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2件)

1. Ohashi T, Nakamura T, Kidokoro M, Zhang X, and Shida H. Combined Cytolytic Effects of a Vaccinia Virus Encoding a Single Chain Trimer of MHC-I with a Tax-Epitope and Tax-Specific CTLs on HTLV-I-Infected Cells in a Rat Model. *BioMed Research International*. 2014: 902478, 2014 (査読有)
2. Lech PJ, Pappoe R, Nakamura T, Russell SJ. Antibody neutralization of retargeted measles viruses. *Virology* 454-455: 237-246, 2014 (査読有)

〔学会発表〕(計 11 件)

1. Takafumi Nakamura. Tumor-targeted and armed oncolytic vaccinia virus for systemic virotherapy. 第 75 回日本癌学会学術総会. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2016/10/8
2. 中村 貴史. 新たながん治療の扉を開く腫瘍溶解ウイルスの最前線～難治性がんを標的破壊する遺伝子組換えワクシニアウイルスによる全身性がんウイルス療法の開発. 第 74 回日本癌学会学術総会. 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市), 2015/10/9
3. Nakatake M, Yamane M, Parada R, Horita K, Okazaki M, Hasegawa K, Miyara A, Fujiwara K, Kurosaki H and Takafumi Nakamura. Enhancing tumor specificity and therapeutic index of oncolytic vaccinia virus through deletions of both VGF and O1 protein genes. The 21th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市), 2015/7/25
4. Horita K, Nakatake M, Goto I, Yamane M, Okazaki M, Parada R, Kurosaki H and Takafumi Nakamura. Identification of host factors required for enhancing replication and spread of oncolytic vaccinia virus. The 21th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市), 2015/7/25
5. Takafumi Nakamura. Tumor-specific, replication-competent vaccinia virus for systemic oncolytic virotherapy. The 21th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy. 大阪国際会議場(大阪府・大阪市), 2015/7/25
6. Takafumi Nakamura. Deletions of both vaccinia growth factor and O1 protein genes enhance therapeutic index of oncolytic vaccinia virus. 9th International Conference on Oncolytic Viruses As Cancer Therapeutics. Boston (USA), 2015/6/15
7. 中村 貴史. 純和製ワクシニアウイルスを用いた難治がんに対するウイルス療法の開発(招待講演). 第 23 回 遺伝子治療推進産学懇話会. 京都大学東京オフィス会議室(東京都), 2015/4/10
8. 中村 貴史. がん治療に生きたウイルスを利用する～ウイルス感染・増殖の制御に基づくウイルス療法の開発～(招待講演). 第 10 回 霊長類医科学フォーラム. 文部科学省研究交流センター(茨城県・つくば市), 2014/11/13
9. Motomu Nakatake and Takafumi Nakamura. Tumor-specific, replication-competent and stealth vaccinia virus for systemic

oncolytic virotherapy. 第 73 回日本癌学会学術総会. パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2014/9/27

10. Naoyoshi Nitta, Ikumi Goto, Motomu Nakatake, Masato Yamane, Kosuke, Horita, Hajime Kurosaki and Takafumi Nakamura. Deletions of both vaccinia growth factor and O1 protein genes enhance therapeutic index of oncolytic vaccinia virus. The 20th Annual Meeting of Japan Society of Gene Therapy. 東京慈恵会医科大学(東京都), 2014/8/8
11. Ikumi Goto, Naoyoshi Nitta, Motomu Nakatake, Nao Okada, Masato Yamane, Hajime Kurosaki, Takafumi Nakamura. Deletions of both vaccinia growth factor and O1 protein genes enhance therapeutic index of oncolytic vaccinia virus. The 17th Annual Meeting of American Society of Gene & Cell Therapy. Washington, DC (USA), 2014/5/21

〔図書〕(計 1 件)

1. 中村 貴史. 腫瘍特異的に増殖する遺伝子組換えワクシニアウイルスによるがんウイルス療法. 実験医学(羊土社), 34(1): 31-37, 2016

〔産業財産権〕

出願状況(計 3 件)

名称: 外来遺伝子発現ワクシニアウイルスの製造方法

発明者: 中村貴史、中武大夢、黒崎創、堀田享佑

権利者: 鳥取大学

種類: 特許

番号: 特願 2016-138712

出願年月日: 2016 年 07 月 13 日

国内外の別: 国内

名称: ワクシニアウイルスの増殖・伝搬を増強する宿主制御因子

発明者: 中村貴史、堀田享佑、黒崎創、中武大夢

権利者: 鳥取大学

種類: 特許

番号: 特願 2015-145153

出願年月日: 2015 年 07 月 22 日

国内外の別: 国内

名称: 分裂促進因子活性化タンパク質キナーゼ依存性組換えワクシニアウイルス(MD-RVV)及びその使用

発明者: 中村貴史

権利者: 鳥取大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2014/081484

出願年月日: 2014 年 11 月 20 日

国内外の別：外国

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

1. 研究内容紹介

[http://www.med.tottori-u.ac.jp/inte
gbio/522/1198.html](http://www.med.tottori-u.ac.jp/inte
gbio/522/1198.html)

2. がんナビ

[http://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/
all/cancer/navi/report/201301/528660
_3.html](http://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/
all/cancer/navi/report/201301/528660
_3.html)

3. ウイルスで新しいがん療法の開発をめ
ざす

[http://ganshien.umin.jp/research/ma
in/nakamura/index.html](http://ganshien.umin.jp/research/ma
in/nakamura/index.html)

6. 研究組織

(1)研究代表者

中村 貴史 (NAKAMURA Takafumi)

鳥取大学・医学系研究科・准教授

研究者番号：70432911

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし

(4)研究協力者

該当なし