

機関番号：15301

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21791364

研究課題名 (和文)

悪性グリオーマに対する腫瘍溶解性ウイルスと抗血管新生薬との併用療法についての検討

研究課題名 (英文)

Combination therapy of oncolytic virus & antiangiogenic drug for malignant glioma

研究代表者

黒住 和彦 (KUROZUMI KAZUHIKO)

岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：20509608

研究成果の概要 (和文)：

腫瘍微小環境をターゲットとした抗血管新生治療薬と腫瘍溶解ウイルス (OV) との併用による治療効果について実験した。次に抗血管新生治療薬と OV 治療との併用療法による相乗効果についてのメカニズムを調べた。オンコリティックウイルスと抗血管新生治療薬との併用療法は、脳腫瘍治療の新たな展開に必要であると考えられる。

研究成果の概要 (英文)：

Malignant glioma is the most common malignant primary brain tumor, and despite recent progress in multimodality treatment, the prognosis of the patients remains very poor. Oncolytic viral (OV) therapy has been considered as a promising treatment modality for malignant glioma. We investigated OV therapy-induced changes in the tumor microenvironment and the combination therapy of OV & antiangiogenic drug for malignant glioma. We revealed the mechanism of this combination therapy. Our results provide us a rationale for designing future clinical trials combining the two agents.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			0
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：悪性グリオーマ、腫瘍溶解性ウイルス、抗血管新生薬

1. 研究開始当初の背景

中枢神経腫瘍は原発性脳腫瘍と二次性脳腫瘍と分けられるが、悪性グリオーマは原発性脳腫瘍の中で最も頻度の高い腫瘍であり、手術療法、化学療法、放射線療法を併用しても、予後は極めて不良である。近年、悪性グリオーマに対する治療として、様々な新しい治療法が試みられているが、中でも、変異型ウイルスを用いた遺伝子治療は近年注目を集めている。腫瘍に対するウイルス療法として、オンコリティックウイルス（腫瘍溶解性ウイルス、OV）を用いた腫瘍溶解療法はウイルスが腫瘍細胞選択的に増殖、溶解するが、正常細胞では増殖しない。悪性グリオーマに対して、OVを用いた6つの臨床治験が行われており、比較的安全であることが示されたが、期待していた効果には至っていない。このOVをさらに効果的な治療モダリティーにするために、現在、数々の施設が研究を続けている。

応募者はオハイオ州立大学脳神経外科において、OVをより効果的な治療戦略とするため悪性グリオーマに対するオンコリティックヘルペスウイルスを用いた宿主の間葉系システムにおける反応、腫瘍微小環境、さらには、腫瘍血管の変化について研究を行ってきた。これらの研究で我々が得た結果は、

1. オンコリティックウイルス(hrR3)の感染後に有意に血管透過性が亢進しているのを認めた。
2. 血管透過性の亢進は炎症により誘導される血管内皮細胞の活性化によるものである。

この原理の証明として、抗血管新生阻害薬cRGD ペプチド (Cilengitide) を用いることにより炎症を抑え、オンコリティックウイルスによる抗腫瘍効果をより増強し、治療効果を認めることができた。以上の結果をもとに、抗血管新生治療薬の併用により、OV治療がより効果的な治療戦略となり得るのではないかと考えた。

2. 研究の目的

研究目的1：投与法を全身投与へ、他のOV（他のタイプのHSV-1、アデノウイルス）、また、他の抗血管新生治療薬（ベバシツマブ）を使用することにより、同様な結果を得ることができるか また、さらに強い効果を得ることができるかについて検討する。
研究目的2：抗血管新生治療薬によりOVの腫瘍溶解を増強するメカニズムをさらに調べる。

3. 研究の方法

(1) 目的1の研究方法

- ① 投与法についての検討
薬剤投与法を全身投与へ変更してみる。
- ② 他の抗血管新生薬による検討
ベバシツマブを単独投与し、薬剤自体の効果をみる。
- ③ 他のタイプの HSV-1、オンコリティックアデノウイルス単独での効果を確認する。

他のタイプの HSV-1、アデノウイルスを使用することにより、同様な結果を得ることができるか、さらに強い効果を得ることができるか、について検討する。

(2) 目的2の研究方法

① 腫瘍血管の評価

血管新生を抑制しているか否かを確認するため、抗血管新生治療薬を用いた後、血管構築がどのように変化しているか微小血管密度を調べる。

② 炎症反応の変化についての検討

宿主の炎症細胞の浸潤の変化について免疫染色をおこなう。

③ 炎症反応における発現因子の変化についての検討

Quantitative PCRによる、発現遺伝子プロファイルの差について検討する。

4. 研究成果

(1) 目的1における研究成果

①投与法についての検討

cRGD ペプチド (Cilengitide) の投与法を全身性投与法に変えたところ、同様な相乗効果が得られた。

②他の抗血管新生薬による検討

他の抗血管新生薬であるベバシツマブも今回の実験に使用したところ、非投与群とくらべ、ベバシツマブ投与群において、血管密度が低下していたが、血管径の縮小化はなく、各々の抗血管新生治療薬による血管新生阻害の形態学的な違いが認められた。ベバシツマブとの併用についても検討していく予定である。

③他のタイプの HSV-1、オンコリティックアデノウイルス単独での効果を確認する。

他の HSV-1 ウイルス rQNestin34.5, (腫瘍特異的なネスチンプロモーターのコントロール下で ICP34.5 遺伝子がドライブされる) を使用したところ、同様な相乗効果が得られた。オンコリティックアデノウイルス (AdexE1AdB) を使用したが、AdexE1AdB 単独群と比べ、U87dEGFR などのヒト脳腫瘍細胞系列のモデルを用いたところ、生存期間の延長傾向が認められたが、まだ、有意な結果ではないため、今後、cRGD ペプチド (Cilengitide) 投与量の検討、ウイルス量の検討をする予定である。

(2) 目的 2 における研究成果

①血管構築の変化についての検討

血管新生を抑制しているか否かを確認するため、微小血管密度を調べたところ、cilengitide 投与群において血管密度が低下しており、今回はさらに、血管径が縮小していることもわかった。

②炎症反応の変化についての検討

CD45 などの免疫染色で、cilengitide 投与群では宿主の炎症細胞浸潤の低下を認めた。さらには、併用群においても炎症反応の発現低下が認められた。

③炎症反応における発現因子の変化についての検討

cilengitide 単独群において Quantitative PCR にて、IL-1, IP-10, Mig, IL-8 などの炎症反応に関連する遺伝子の発現が低下していた。さらには、併用群においても炎症反応の発現低下が認められ、OV を増強させる、相乗効果の一つの機序として考えられた。

以上の結果をさらに発展させ、今後、腫瘍微小環境をターゲットとした分子標的薬と新規 OV との併用による治療効果についての実験を始めていく予定である。

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 7 件)

1. Double-stick tape' technique for transposition of an offending vessel in microvascular decompression: Technical case report Ichikawa T, Agari T Kurozumi K, Maruo T, Satoh T, Date I Neurosurgery. 2011 Mar 8. [Epub ahead of print] (査読有)
2. Angiogenesis and invasion in glioma Onishi M, Ichikawa T, Kurozumi K, Date

I Brain Tumor Pathology 28(1): 13-24, 2011 (査読有)

3. 浸潤をターゲットとした分子標的治療 大西 学, 黒住和彦, 市川智継, 伊達 勲 日本臨床 68(Suppl 10): 506-510, 2010 (査読有)
4. ウイルス療法の新潮流 市川智継, 黒住和彦, 吉田光一, 伊達 勲 日本臨床 68(Suppl 10): 478-482, 2010 (査読有)
5. Enhanced Antitumor Efficacy of Vasculostatin(Vstat120) Expressing Oncolytic HSV-1 Hardcastle J, Kurozumi K, Dmitrieva N, Sayers MP, Ahmad S, Waterman P, Weissleder R, Chiocca EA and Kaur B. Mol Ther, 18(2):285-294, 2010 Epub 2009 Oct 20. (査読有)
6. Parkinsonism Related to Brain Tumors: A Case Report and Review of the literature Takao Yasuhara, Takashi Agari, Hirokazu Kambara, Tomotsugu Ichikawa, Kazuhiko Kurozumi, Shigeki Ono, Yasuyuki Miyoshi, Koji Tokunaga and Isao Date The Open Neurosurgery Journal 2: 4-7, 2009 (査読有)
7. グリオーマに対する手術摘出度と予後 市川智継, 黒住和彦, 伊達 勲 脳 21 12(1): 75-78, 2009 (査読有)

[学会発表] (計 61 件)

1. 第 21 回日本間脳下垂体腫瘍学会: 東京, 2011.03.11 鞍上部胚細胞腫に対する集学的治療の成績 黒住和彦
2. 第 33 回日本造血細胞移植学会総会: 松山, 2011.03.09-10 中枢神経系悪性リンパ腫に対する自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法 近藤英生
3. The 4th International Neurosurgical Winter Congress joint convention with Hakuba Seminar and Korean Brain Tumor Society Winter Meeting: Rusutsu, Hokkaido, 2011.02.07-11 Antiangiogenic and anti-invasive effect of cilengitide on experimental glioma model Onishi M
4. The 4th International Neurosurgical Winter Congress joint convention with Hakuba Seminar and Korean Brain Tumor Society Winter Meeting: Rusutsu, Hokkaido, 2011.02.7-11 The integrin antagonist cilengitide enhances anti-tumor effect of vasculostatin expressing oncolytic virus Fujii K
5. 第 13 回日本脳神経減圧術学会: 広島, 2011.01.20 神経血管減圧術における圧迫血管の”両面テープ”固定法—フィブリン-コラーゲンシート (タココンブ) の使用経験—市川智継
6. 第 17 回日本神経内視鏡学会: 千葉,

- 2010.12.10-11 顕微鏡手術における神経内視鏡の使用—神経内視鏡と顕微鏡の使い分け—小野成紀
7. 第 17 回日本神経内視鏡学会：千葉，2010.12.10-11 脳室近傍腫瘍に対する神経内視鏡的アプローチ 黒住和彦
 8. 第 17 回日本神経内視鏡学会：千葉，2010.12.10-11 内視鏡下経鼻的経蝶形骨洞手術後の遅発性鼻出血—蝶口蓋動脈塞栓術が有効であった1例— 石田穰治
 9. 第 28 回日本脳腫瘍学会学術集会：軽井沢，2010.11.28-30 中枢神経原発リンパ腫に対する個別化治療戦略 市川智継
 10. 第 28 回日本脳腫瘍学会学術集会：軽井沢，2010.11.28-30 腫瘍微小環境における分子標的薬cilengitideの作用機序 黒住和彦
 11. 第 28 回日本脳腫瘍学会学術集会：軽井沢，2010.11.28-30 浸潤性グリオーマ動物モデルを用いた浸潤規定因子の検討 大西 学
 12. 第 28 回日本脳腫瘍学会学術集会：軽井沢，2010.11.28-30 Cilengitide と vasculostatin の腫瘍微小環境修飾による腫瘍溶解ウイルス療法の増強 藤井謙太郎
 13. 第 28 回日本脳腫瘍学会学術集会：軽井沢，2010.11.28-30 I 型インターフェロン阻害タンパクの同時投与による腫瘍溶解性ウイルス療法の強化 吉田光一
 14. (社)日本脳神経外科学会第 69 回学術総会：福岡，2010.10.27-29 高齢者中枢神経原発リンパ腫に対するPBSCT併用超大量化学療法 市川智継
 15. (社)日本脳神経外科学会第 69 回学術総会：福岡，2010.10.27-29 分子標的薬 cilengitide は炎症反応の変化により腫瘍微小環境を修飾する 黒住和彦
 16. (社)日本脳神経外科学会第 69 回学術総会：福岡，2010.10.27-29 血管新生依存型浸潤を示す動物 glioma モデルを用いた cilengitide および bevacizumab の作用機序の比較 大西 学
 17. (社)日本脳神経外科学会第 69 回学術総会：福岡，2010.10.27-29 Cilengitide と vasculostatin の腫瘍微小環境修飾によるウイルス療法の強化 藤井謙太郎
 18. (社)日本脳神経外科学会第 69 回学術総会：福岡，2010.10.27-29 I 型インターフェロン阻害タンパクを用いた自然免疫抑制による腫瘍溶解性ウイルス療法の強化 吉田光一
 19. 第 15 回日本脳腫瘍の外科学会：大阪，2010.10.01-02 頭蓋底、トルコ鞍近傍疾患への神経内視鏡の適応と限界 小野成紀
 20. 第 15 回日本脳腫瘍の外科学会：大阪，2010.10.01-02 脳室近傍腫瘍に対する内視鏡手術の適応と限界 黒住和彦
 21. 第 15 回日本脳腫瘍の外科学会：大阪，2010.10.01-02 全摘出を目指すependymomaの手術戦略 市川智継
 22. 第 70 回岡山内分分泌同好会：岡山，2010.09.15 神経内視鏡単独で行う下垂体腺腫に対する低侵襲手術 伊達 勲
 23. 第 24 回中国四国脳腫瘍研究会：岡山，2010.09.10 小児髄膜腫の一例 大西学
 24. 第 11 回日本分子脳神経外科学会：仙台，2010.08.27-28 Cilengitide および bevacizumab の抗血管新生機序の比較—動物グリオーマモデルを用いた組織学的検討— 大西 学
 25. 第 11 回日本分子脳神経外科学会：仙台，2010.08.27-28 Cilengitide と vasculostatin は腫瘍微小環境を修飾しウイルス療法を強化する 藤井謙太郎
 26. 第 11 回日本分子脳神経外科学会：仙台，2010.08.27-28 新規浸潤性グリオーマ動物モデルを用いた浸潤形態規定因子 Protein X の組織学的検討 新土居ロベルト
 27. 第 22 回日本頭蓋底外科学会：久留米，2010.07.15-16 頭蓋底手術におけるデュラシールTMブルースプレーの使用経験 黒住和彦
 28. 7th Meeting of Asian Society for Neuro-Oncology : Seoul, Korea, 2010.06.10-12 Histopathologic analysis of Invasion and angiogenesis in novel rat glioma models Onishi M
 29. 第 38 回日本小児神経外科学会：富山，2010.06.04-05 乳児 choroid plexus carcinoma に対する造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法 市川智継
 30. 第 38 回日本小児神経外科学会：富山，2010.06.04-05 小児悪性グリオーマに対する外科治療を含めた集学的治療の成績 黒住和彦
 31. 第 28 回日本脳腫瘍病理学会：大阪，2010.05.21-22 浸潤性グリオーマモデルを用いた浸潤形態規定因子 protein X の検討 大西 学
 32. 第 28 回日本脳腫瘍病理学会：大阪，2010.05.21-22 診断に苦慮している脳幹グリオーマの一例 黒住和彦
 33. 第 23 回日本老年脳神経外科学会：松山，2010.03.26 高齢者中枢神経原発リンパ腫に対する造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法 市川智継
 34. 第 23 回日本老年脳神経外科学会：愛媛，2010.03.26 高齢者悪性グリオーマにお

- ける治療成績の検討 黒住和彦
35. 第 19 回脳神経外科手術と機器学会：東京，2010.03.19-20 合成吸収性人工硬膜 SEAMDURA の使用経験—再開頭症例における術中所見— 黒住和彦
 36. 第 33 回日本脳神経 CI 学会総会：東京，2010.02.10-11 鞍上部腫瘍での視神経同定における IR-prepared 3DFSPGR 法の有用性 丸尾智子
 37. 第 16 回日本神経内視鏡学会：富山，2009.12.04-05 神経内視鏡手術における周術期画像情報管理システム (PICS) の有用性 市川智継
 38. 第 16 回日本神経内視鏡学会：富山，2009.12.04-05 非交通性水頭症に対する神経内視鏡下 septostomy におけるさまざまな工夫 安原隆雄
 39. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 腫瘍溶解性ウイルス療法における新規バイオマーカーの探索 黒住和彦
 40. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 I 型インターフェロン阻害タンパク併用による腫瘍溶解性アデノウイルス療法の強化 吉田光一
 41. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 中枢神経原発リンパ腫に対する造血幹細胞移植を併用した超大量化学療法による地固め 市川智継
 42. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 ユビキチン抵抗性 p53 タンパク質を用いた悪性グリオーマ腫瘍増殖抑制効果の検討 道上宏之
 43. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 初発中枢神経系原発悪性リンパ腫の画像所見—glioblastoma との比較— 丸尾智子
 44. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 分子標的薬 cilengitide の浸潤性グリオーマに対する抗腫瘍効果 大西 学
 45. 第 27 回日本脳腫瘍学会：大阪，2009.11.08-10 動物グリオーマモデルを用いた血管新生規定タンパクの同定 藤井謙太郎
 46. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 中枢神経原発リンパ腫に対する分子標的薬リツキシマブの効果 市川智継
 47. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 分子標的薬 cilengitide と腫瘍溶解性ウイルスの併用療法 黒住和彦
 48. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 ユビキチン抵抗性長期発現型 p53 タンパク質細胞内導入法による悪性グリオーマ細胞増殖抑制効果についての検討 道上宏之
 49. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 分子標的薬 cilengitide の浸潤性グリオーマに対する抗腫瘍効果機序 大西 学
 50. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 浸潤規定遺伝子の同定と浸潤性グリオーマ動物モデルを用いた組織学的検討 藤井謙太郎
 51. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 I 型インターフェロン阻害タンパク併用による腫瘍溶解性アデノウイルス療法の強化 吉田光一
 52. (社) 日本脳神経外科学会第 68 回学術総会：東京，2009.10.14-16 ドリリング時におけるミストイリゲーションシステムの有効 安原隆雄
 53. 第 14 回日本脳腫瘍の外科学会：東京，2009.09.25-26 脳腫瘍手術における周術期画像情報管理システム (PICS) の有用性 市川智継
 54. 第 14 回日本脳腫瘍の外科学会：東京，2009.09.25-26 テント上脳室近傍腫瘍に対する内視鏡手術の適応と有用性 黒住和彦
 55. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 I 型インターフェロン阻害タンパクを使った悪性グリオーマに対する腫瘍溶解性アデノウイルス治療の強化 吉田光一
 56. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 腫瘍溶解性ウイルスとシクロフォスファミド (CPA) の併用療法における遺伝子プロファイリング 黒住和彦
 57. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 分子標的薬 cilengitide の浸潤性グリオーマに対する抗腫瘍効果 大西 学
 58. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 プロテオミクス解析を用いた悪性グリオーマの浸潤に関わるタンパクの同定 丸尾智子
 59. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 浸潤性グリオーマ動物モデルを用いた浸潤規定因子の検討 藤井謙太郎
 60. 第 10 回日本分子脳神経外科学会：岡山，2009.09.19-20 長期安定型ユビキチン抵抗性 p53 タンパク質を用いた細胞内導入法による悪性神経膠腫治療効果についての検討 道上宏之
 61. 第 23 回中国四国脳腫瘍研究会：高知，2009.09.11 出血発症 AVM に対するガン

マナイフ治療後に発生した小脳膠芽腫
の1例 吉田光一

〔図書〕(計 2件)

1. 遺伝子導入幹細胞を用いた悪性グリオーマの治療 市川智継、黒住和彦、伊達 勲 NS NOW No.5 グリオーマーその最新知見一、寺本 明、新井 一、塩川芳昭、大畑建治編，メジカルビュー社，東京，2009，pp116-119
2. 悪性グリオーマの画像診断およびその治療への応用—生命予後と機能的予後の改善を目指して— 市川智継、黒住和彦、丸尾智子、衣笠和孜、河井信行、田宮 隆、伊達 勲脳腫瘍の外科—Multimodalityの時代の脳腫瘍の外科—，河本圭司編，メディカ出版，大阪，2009，pp22-31

6. 研究組織

(1) 研究代表者

黒住 和彦 (KUROZUMI KAZUHIKO)
岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・
助教
研究者番号：20509608