

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 4 月 13 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462254

研究課題名(和文) ワクシニアウイルスを用いた腫瘍免疫誘導の開発と生体イメージング

研究課題名(英文) Analysis of antitumor immunity induced by vaccinia virus with in vivo imaging

研究代表者

荒川 芳輝 (Arakawa, Yoshiki)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20378649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：悪性脳腫瘍に対するワクシニアウイルスによるオンコリティック・バイオレスポンスの解析とその治療応用技術の開発を目的とした。脳腫瘍モデルでワクシニアウイルス療法が誘引する抗腫瘍免疫環境の解析を行い、ウイルス導入による各免疫担当細胞の誘導を確認した。腫瘍免疫活性化の増強を目的にFlt3L発現ワクシニアウイルスを作成した。脳腫瘍モデルでFlt3L発現ワクシニアウイルスの作用を解析に必要な準備を整えた。髄芽腫手術標本を用いた腫瘍免疫環境の動態を解析し、髄芽腫細胞のPD-L1発現、CD8陽性リンパ球浸潤低下が髄芽腫予後悪化に関わることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：The aim of the project is to analyze oncolytic bioresponse induced by vaccinia virus, and to develop the new oncolytic therapy. Our previous results indicate that the antitumor immunity activated by vaccinia virus is effective for malignant brain tumors. In brain tumor models, the induction of antitumor immune competent cells was identified by immunohistochemical staining and flow cytometry, although it was not sufficient for long-term tumor control. As Flt3L is known to be a strong stimulator of antitumor immune system, Flt3L-expressing vaccinia virus has been developed. The in vivo analyzing system of antitumor immunity has been prepared to evaluate efficacy of Flt3L-expressing vaccinia virus. The status of antitumor immunity in medulloblastoma was analyzed. We confirmed that high PD-L1 expression and low CD8+ lymphocyte infiltration was associated with worse survival in patients with medulloblastoma.

研究分野：脳神経外科

キーワード：悪性脳腫瘍 ワクシニアウイルス 生体イメージング

1. 研究開始当初の背景

悪性脳腫瘍は、集学的治療の進歩で生存期間が延長してきたが、治療困難な疾患である。悪性脳腫瘍が難治である要因は、高度な浸潤性、腫瘍免疫抑制、腫瘍幹細胞である。腫瘍細胞が速い浸潤能(8 μ m/hr)を有し進展することから、診断画像による標的治療では限界がある。腫瘍幹細胞(tumor stem cell)の存在が証明され、申請者らも腫瘍幹細胞が放射線治療、化学療法に抵抗性である要因である。これらの治療は、悪性脳腫瘍の克服には、腫瘍細胞だけでなく腫瘍環境を標的とした治療技術の開発が必要である。

オンコリティック・バイオレスポンスは、ウイルスによるがん細胞殺傷(従来のウイルスがん治療の概念)と腫瘍免疫誘導(新たなウイルス治療に期待される概念)である。オンコリティック・バイオレスポンスは悪性脳腫瘍の難治因子を克服する可能性がある。ワクシニアウイルス(vaccinia virus)は、宿主核外増殖型で宿主遺伝子に影響がない、細胞性免疫賦活、がん細胞への高い選択性と強い細胞殺傷能力、変異体形成とウイルス精製・管理が容易、ワクチンベクターとして有用といった利点がある。そこで、申請者らは、ワクシニアウイルスを用いた悪性脳腫瘍に対するオンコリティック・バイオレスポンスの解析とその治療応用技術の開発に取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究では、生体内バイオイメージングを駆使してワクシニアウイルスによる腫瘍免疫環境を解析し、効果的な腫瘍免疫誘導技術を確立する。樹状細胞を誘導するサイトカインFlt3Lを発現するウイルスを開発し、腫瘍免疫誘導と腫瘍幹細胞に対する効果を解析する。

3. 研究の方法

ワクシニアウイルスによる腫瘍免疫動態を免疫組織化学、FACSを用いて解析する。ワクシニアウイルスによる悪性脳腫瘍の細胞障害と免疫誘導の相互作用を解析する

Flt3L発現ベクターの作成からFlt3L発現ワクシニアウイルスを開発する。変異ウイルス開発では、Michael Way博士の研究室でウイルスプロモーターpE/Lを用いてFlt3Lをウイルス内に導入する。

開発したFlt3L発現ワクシニアウイルスの腫瘍免疫環境制御を免疫組織化学、FACSを用いて解析する。

髄芽腫手術標本を用いて腫瘍免疫動態を免疫組織化学、FACSを用いて解析する。

4. 研究成果

ウイルス治療による腫瘍免疫活性化が悪性脳腫瘍の治療に有効であることが確認された。脳腫瘍モデルでワクシニアウイルス療法が誘引する抗腫瘍免疫環境の解析を行い、

ウイルス導入による各免疫担当細胞の誘導を解析したが、腫瘍免疫活性化は長期腫瘍制御には不十分であった。そこで、腫瘍免疫活性化を増強したFlt3L発現ワクシニアウイルスを作成した。脳腫瘍モデルでFlt3L発現ワクシニアウイルスの作用を解析に必要な準備を整えた。髄芽腫手術標本を用いた腫瘍免疫環境の動態を明らかにした。その結果、髄芽腫細胞のPD-L1発現、CD8陽性リンパ球浸潤低下が髄芽腫予後悪化に関わることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計14件)

1. Hideo Chihara, Yasushi Takagi, Kazunari Nishino, Kazumichi Yoshida, Yoshiki Arakawa, Takayuki Kikuchi, Yohei Takenobu, Susumu Miyamoto. Factors Predicting the Effects of Hybrid Assistive Limb Robot Suit during the Acute Phase of Central Nervous System Injury. *Neurologia medico-chirurgica* (Tokyo). 56:33-37, 2015.
2. Bin Liu, Bo Pang, Huajie Liu, Yoshiki Arakawa, Rui Zhang, Bin Feng, Peng Zhong, Daiki Murata, Haitao Fan, Tao Xin, Guangyu Zhao, Wei Liu, Hua Guo, Liming Luan, Shangchen Xu, Susumu Miyamoto, Qi Pang. High mobility group A1 expression shows negative correlation with recurrence time in patients with glioblastoma multiforme. *Pathology - Research and Practice*, Volume 211, Issue 8, Pages 596-600, 2015,
3. Akihiko Sakata, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Toshiki Dodo, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Primary central nervous system lymphoma: is absence of intratumoral hemorrhage a characteristic finding on MRI? *Radiology and Oncology* 49(2): 128-134, 2015
4. Mitsue Miyazaki, Cheng Ouyang, Xiangzhi Zhou, James B. Murdoch, Yasutaka Fushimi, Tomohisa Okada, Koji Fujimoto, Aki Kido, Yoshiki Arakawa, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi Z-Spectrum analysis provides proton environment data (ZAPPED): a new two-pool technique for human gray and white matter. *PLoS One*. 13;10(3):e0119915, 2015

5. Sachi Okuchi, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Moritaka Yamauchi, Masako Kataoka, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Sachiko Minamiguchi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Grading meningioma: a comparative study of thallium-SPECT and FDG-PET. *Medicine*. 94(6):e549, 2015
 6. Akihiko Sakata, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Toshiki Dodo, Yoshiki Arakawa, Benjamin Schmitt, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Grading glial tumors with amide proton transfer MR imaging: different analytical approaches. *Journal of Neuro-Oncology*, 122, Issue 2, pp 339-348, 2015
 7. Satoshi Nakajima, Tomohisa Okada, Akira Yamamoto, Mitsunori Kanagaki, Yasutaka Fushimi, Tsutomu Okada, Yoshiki Arakawa, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto, Kaori Togashi. Primary central nervous system lymphoma and glioblastoma: differentiation using dynamic susceptibility-contrast perfusion-weighted imaging, diffusion-weighted imaging, and (18)F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *Clinical Imaging* 39, 390-395, 2015
 8. Manabu Kanemoto, Mitsuaki Shirahata, Akiyo Nakauma, Katsumi Nakanishi, Kazuya Taniguchi, Yoji Kukita, Yoshiki Arakawa, Susumu Miyamoto and Kikuya Kato. Prognostic prediction of glioblastoma by quantitative assessment of the methylation status of the entire MGMT promoter region. *BMC Cancer* 14:641, 2014
 9. Rika Inano, Naoya Oishi, Takeharu Kunieda, Yoshiki Arakawa, Yukihiro Yamao, Sumiya Shibata, Takayuki Kikuchi, Hidenao Fukuyama, Susumu Miyamoto. Voxel-based clustered imaging by multiparameter diffusion tensor images for glioma grading. *NeuroImage: Clinical* 5:396-407, 2014
 10. Tsubasa Watanabe, Takashi Mizowaki, Yoshiki Arakawa, Yusuke Iizuka, Kengo Ogura, Katsuyuki Sakanaka, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Pineal parenchymal tumor of intermediate differentiation: Treatment outcomes of five cases. *Molecular and Clinical Oncology* 2(2):197-202, 2014
 11. Takahide Kakigi, Tomohisa Okada, Mitsunori Kanagaki, Akira Yamamoto, Yasutaka Fushimi, Ryo Sakamoto, Yoshiki Arakawa, Yoshiki Mikami, Taro Shimono, Jun C. Takahashi, Kaori Togashi. Quantitative imaging values of CT, MR, and FDG-PET to differentiate pineal parenchymal tumors and germinomas: are they useful? *Neuroradiology* 56(4):297-303, 2014
 12. Ryo Sakamoto, Tomohisa Okada, Mitsunori Kanagaki, Akira Yamamoto, Yasutaka Fushimi, Takahide Kakigi, Yoshiki Arakawa, Jun C Takahashi, Yoshiki Mikami, Kaori Togashi. Estimation of proliferative potentiality of central neurocytoma: correlational analysis of minimum ADC and maximum SUV with MIB-1 labeling index. *Acta Radiologica*. 2014
 13. Kengo Ogura, Takashi Mizowaki, Yoshiki Arakawa, Masakazu Ogura, Katsuyuki Sakanaka, Susumu Miyamoto, Masahiro Hiraoka. Initial and cumulative recurrence patterns of glioblastoma after temozolomide-based chemoradiotherapy and salvage treatment: a retrospective cohort study in a single institution. *Radiation Oncology* 8:97, 2013
 14. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Daiki Murata, Koichi Fujimoto, Takayuki Kikuchi, Takeharu Kunieda, Jun C. Takahashi, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Retrospective Analysis of Bevacizumab in Combination with Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide in Patients with Second Recurrence of Glioblastoma. *Neurologia medico-chirurgica* 53(11):779-85, 2013
- [学会発表](計10件)
1. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Yohei Mineharu, Masaharu Tanji, Kengo Ogura, Megumi Uto, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Bevacizumab, ifosfamide, carboplatin, and

- etoposide (BICE) concomitant with radiotherapy in patients with first recurrence of glioblastoma after temozolomide treatment. the 12th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology. September 17-20, 2015, Manila, Philippines.
2. Yoshiki Arakawa, Takashi Mizowaki, Masahiro Tanji, Yohei Mineharu, Kengo Ogura, Megumi Uto, Takeharu Kunieda, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Retrospective review of glioblastoma patients treated with bevacizumab-containing and non-bevacizumab-containing regimens in a single institution. The 20th Annual Scientific Meeting and Education Day of the Society for Neuro-Oncology. November 19 - 22, 2015 San Antonio, Texas.
 3. 荒川芳輝、峰晴陽平、丹治正大、青木友和、上羽哲也、北条雅人、岩崎孝一、高橋淳B、國枝武治、高木康志、宮本享。膠芽腫初回再発に対する放射線療法併用BICE療法。第33回日本脳腫瘍学会学術集会。2015年12月6日～8日 京都
 4. 荒川芳輝 山口真希 南口 早智子 羽賀博典 丹治正大 峰晴陽平 西田南海子 岩崎孝一 辻雅夫 宮本享。中間型松果体実質腫瘍におけるソマトスタチン受容体発現の検討。第33回日本脳腫瘍病理学会学術集会。2015年5月29日(金)・30日(土)高松 香川
 5. Yoshiki Arakawa, Katsutsugu Umeda, Ken-ichiro Watanabe, Takashi Mizowaki, Masahiro Hiraoka, Hidefumi Hiramatsu, Souichi Adachi, Takeharu Kunieda, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Efficacy of bevacizumab plus irinotecan in children with recurrent or progressive malignant glioma. 16th International Symposium on Pediatric Neuro-Oncology (ISPNO), June 29 (28 June - 02 July 2014), 2014 Singapore
 6. Yoshiki Arakawa, Yuji Nakamoto, Tomohisa Okada, Yasuhide Takeuchi, Sachiko Minamiguchi, Takeharu Kunieda, Yasushi Takagi, Susumu Miyamoto. Molecular imaging of pineal parenchymal tumor by (68)Ga-DOTATOC-PET/C". 19th Annual Society for Neuro-Oncology, November 13-16, 2014 Miami, Florida
 7. 荒川芳輝 寺田行範 福井伸行 村田大樹 藤本浩一 中本裕士 岡田知久 國枝武治 高木康志 宮本享 松果体実質性腫瘍に対する分子イメージング。第15回日本分子脳神経外科学会 2014年9月28日 山形
 8. 荒川芳輝 森吉弘毅 三上芳喜 中嶋安彬 羽賀博典 宮本享。中間型松果体実質腫瘍(PPTID)11例の病理組織学的検討。第32回日本脳腫瘍病理学会 2014年5月23日 徳島
 9. 荒川芳輝、溝脇尚志、小倉健吾、杉野寿哉、國枝武治、高木康志、平岡眞寛、宮本享。高齢者膠芽腫に対する低分割定位放射線治療。第27回日本老年脳神経外科学会 シンポジウム 2014年4月25日 新潟
 10. 荒川芳輝、青木友和、上羽哲也、北条雅人、岩崎孝一、丹治正大、國枝武治、高橋淳B、高木康志、宮本享。膠芽腫に対する bevacizumab の治療効果の検討。第32回日本脳腫瘍学会 2014年12月1日 千葉県浦安市
- 〔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〕
ホームページ
<http://neurosurg.kuhp.kyoto-u.ac.jp/>
- ## 6. 研究組織
- (1)研究代表者
荒川芳輝 (Yoshiki Arakawa)
京都大学医学研究科 助教
研究者番号：20378649
 - (2)研究分担者
タムケオ ディーン (Dean Thumkeo)
京都大学医学研究科 助教
研究者番号：40372594
 - (3)連携研究者
松田道行 (Michiyuki Matsuda)
京都大学医学研究科 教授
研究者番号：10199812
 - (4)研究協力者
村田 大樹 (Daiki Murata)

藤本 浩一 (Ko-ichi Fujimoto)
横川 隆太 (Ryuta Yokogawa)
寺田 行範 (Yukinori Terada)
福井 伸行 (Nobuyuki Fukui)
劉 濱 (Bin Liu)