

令和 2 年 6 月 10 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2019

課題番号：15K10031

研究課題名(和文) 難治癌の新規集学的治療開発：遺伝子治療応答性への癌微小環境・悪液質の関わりと制御

研究課題名(英文) Development of new multidisciplinary therapy in intractable cancer

研究代表者

上野 真一 (Ueno, Shinichi)

鹿児島大学・鹿児島大学病院・特例教授

研究者番号：40322317

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)：Surv.m-CRAの腫瘍導入を図る医師主導治験は、軟部腫瘍を中心に患者投与が開始された。免疫細胞や癌幹細胞変化について、免疫組織学・分子生物学的な面からと全身の恒常的炎症状態による治療応答性を明らかにするために、既存資料(コントロール群約20サンプル)と本遺伝子治療導入における生体のサイトカイン類や血管新生誘導因子類の測定が行われた。既存資料との対比からは、癌細胞のミトコンドリア損傷---ミトコンドリアDNA酸化(apoptosis)---NLPR3インフラマソーム活性化---IL1BやIL18分泌---Th1型の炎症反応(癌細胞の生存・増殖)にみられる治療抵抗性誘導の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨軟部腫瘍や胆膵癌などの難治癌に対する新規遺伝子治療開発が鹿児島大学小賤健一郎等を中心に行われ、その臨床試験も開始された。この遺伝子治療単独の治療効果に付随して、どのような集学的治療が考えられるか、またその治療抵抗性の検討等も重要な検討課題である。本付随研究による学術的意義として、既存資料との対比から、癌細胞の壊死誘導によりプライミングされる免疫炎症反応を抑えることも治療効果に関与する点である。

研究成果の概要(英文)：As for the investigator initiated trial of Surv.m-CRA, the protocol was approved by the Minister of Health, Labour and Welfare, too, and the patient dosage was already started mainly on a soft tumor. In order to clarify the treatment responsibility in relation to the patients' inflammatory state in terms of an immune cell and a cancer stem cell change, the existing tissue sample (control group) and the measurement of cytokine and vascularization instruction factors in this gene therapy were performed. In this gene therapy introduction, the possibility of the treatment-resistance due to the inflammatory reaction: the mitochondrial damage---mitochondrial DNA oxidation (apoptosis)---NLPR3 activation ---IL1B and IL18 secretion ---Th1 type of inflammation (survival and increase of the cancer cell) was suspected.

研究分野：外科学

キーワード：癌の集学的治療 癌微小環境 遺伝子治療

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんに対する遺伝子治療は1991年より米国を中心に多くの臨床試験が行われ、初期の非増殖型ウイルスベクターを用いた遺伝子治療の安全性は確認されたが、治療遺伝子薬は体内の全てのがん細胞に到達することは不可能であり、期待された治療効果は得られなかった。続いて、がんのみで特異的に増殖するCRAによるウイルス療法が報告されたが、同ウイルスのがん特異性(安全性と治療効果)は不完全で、また効率的な標準化作製技術も未確立であるために、がん治療薬や新規研究用遺伝子導入ベクターとして十分ではなかった。本申請のベクターは3プラスミドシステムの技術改良を行い、RNA干渉を導入しm-CRAの作製自由度と応用性を飛躍的に増加させたものであり、新しいがん治療薬の開発や遺伝子導入・発現調節の研究ツールとして、オーダーメイドm-CRA作製も可能としている(文献1-3、後載)。従って、サバイビン反応性m-CRA(Surv.m-CRA)を用いた難治性消化器癌への臨床効果を検証することは、学術的意義が極めて大きい。さらに、付随研究として、高度進行癌患者の恒常的炎症状態(悪液質)が新規治療の反応性や幹細胞制御にどのように関わるのか、また、これらを応用した新規集学的治療開発の方策を検討することが必要であり、この付随研究を施行した。

2. 研究の目的

難治性消化器癌の革新的遺伝子治療Oncolytic Virotherapyに対する癌微小環境ならびに宿主の恒常的炎症状態(悪液質)がもたらす宿主応答性とその変化に関して検討を行い、新規集学的治療の開発につなげる。

1) サバイビン反応性m-CRAを用いた難治性消化器癌に対する医師主導治験(IIT)に伴い、その応答性を癌微小環境状態(サイトカインやインフラマソーム解析)と全身炎症性反応の面から検討する。

2) 治療前後の免疫細胞や癌幹細胞変化についても、免疫組織学・分子生物学的に検討する。

3. 研究の方法

1) 組織学的に診断され、切除不能かつ従来の化学療法などにより治療効果を得られない高度進行の肝臓癌、膵臓癌、胆管癌症例に対し、外科的直視下にSurv.m-CRA-1投与を行う。

2) この治療前後において得られた癌部・非癌部組織、また血液サンプルから炎症系・抗炎症系サイトカイン、血管新生誘導因子類、さらにインフラマソーム構成分子類の推移・変異等を検討する。

さらに、癌幹細胞や免疫細胞変化を免疫組織学的・分子生物学的に検討する。

3) 以上の得られた基礎的パラメーターとSurv.m-CRA-1投与効果を比較検討し、治療効果を高めるために、どのような宿主モジュレーションが可能かを検討する。

なお、Surv.m-CRA-1投与効果の臨床試験では、2016年3月にINDを提出し、難治性悪性骨および軟部組織腫瘍に対するヒト初の研究者開始ICH-GCP臨床試験を実施された(Phase I)。3回投与(低: 1×10^{10} ウイルス粒子[vp]、中: 1×10^{11} vp、高: 1×10^{12} vp)が計画され、有害作用はCTCAE v4.0に従って評価された。ウイルスは、血液、尿および唾液中に流し込み、PCRによって監視された。有効性は、RECIST基準に従ってCTにより評価された。

4. 研究成果

Surv.m-CRAの腫瘍導入を図る医師主導治験は、治験実施計画書も厚生労働大臣に承認され、現在軟部腫瘍を中心に患者投与がすでに開始された。臨床データとともに血液検体等も蓄積中である。1例目は左大腿軟部腫瘍例にSurv.m-

CRA が投与され、投与後 28 週で 48%の腫瘍縮小が得られ、PR と判断された。とくに明らかな有害反応は認められず、治験続行可能と判断される。用量決定のための 3 × 3 名のトライアルが完遂し、その安全性や治療反応性については報告が行われた (ASCO2019, 2020)。高度肉腫のためのアデノウイルスを条件付きで複製する潜在的に「クラス最高」の生存反応の第 1 段階の研究は、実際に強力かつ長期的な有効性と高い安全性を実証すると考えられた。

また申請者等は、Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL) に対する Surv.m-CRA の in vitro における作用も同時に研究し、anti-ATL agents としての可能性も報告した (文献 4)

疫細胞や癌幹細胞変化について、免疫組織学・分子生物学的な面からと全身の恒常的炎症状態による治療応答性を明らかにするために、既存資料 (コントロール群約 20 サンプル) と、2015-19 における肝胆膵進行癌それぞれの DNA, RNA ライブラリーを用いて癌部・非癌部のサイトカイン発現、インフラマソーム発現と腫瘍変異に対する DNA シークエンス、またマイクロ RNA 解析などが行われた。本遺伝子治療導入において、サイトカイン類 (IL1B, IL6, IL8, IL10 など) と血管新生誘導因子類の測定により、癌細胞のミトコンドリア損傷---ミトコンドリア DNA 酸化 (apoptosis)---NLPR3 インフラマソーム活性化---IL1B や IL18 分泌---Th 1 型の炎症反応 (癌細胞の生存・増殖) にみられる治療抵抗性誘導の可能性が疑われた。DNA 解析による腫瘍遺伝子変異パターンと治療反応性の差異は本研究では見られなかった。

文献報告

- 1) Nagano S, Kosai K. An Efficient Construction of Conditionally Replicating Adenoviruses That Target Tumor Cells With Multiple Factors. *Gene Ther* 2005
- 2) Kamizono J, Nagano S, Kosai K. Survivin-responsive Conditionally Replicating Adenovirus Exhibits Cancer-Specific and Efficient Viral Replication. *Cancer Res* 2005
- 3) Tanoue K, Kosai K. Survivin-responsive Conditionally Replicating Adenovirus Kills Rhabdomyosarcoma Stem Cells More Efficiently Than Their Progeny *J Trans Med* 2014
- 4) Suzuki K, Ueno S, Kosai K. A Survivin-Responsive, Conditionally Replicating Adenovirus Induces Potent Cytocidal Effects in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. *BMC Cancer* 2019.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Yonemori K, Kurahara H, Maemura K, Mataka Y, Sakoda M, Iino S, Ueno S, Shinchi H, Natsugoe S.	4. 巻 14-2
2. 論文標題 Impact of Snail and E-cadherin expression in pancreatic neuroendocrine tumors.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncol Letter	6. 最初と最後の頁 1697-1702
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2017.6306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Maemura K, Mataka Y, Kurahara H, Kawasaki Y, Iino S, Sakoda M, Ueno S, Arimura T, Higashi R, Yoshiura T, Shinchi H, Natsugoe S.	4. 巻 17-5
2. 論文標題 Comparison of proton beam radiotherapy and hyper-fractionated accelerated chemoradiotherapy for locally advanced pancreatic cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pancreatology.	6. 最初と最後の頁 833-838
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2017.07.191	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Beppu T, Imai K, Okuda K, Eguchi S, Kitahara K, Tani ai N, Ueno S, Shirabe K, Ohta M, Kondo K, Nanashima A, Noritomi T, Shiraishi M, Takami Y, Okamoto K, Kikuchi K, Baba H, Fujioka H.	4. 巻 24-3
2. 論文標題 Anterior approach for right hepatectomy with hanging maneuver for hepatocellular carcinoma: a multi-institutional propensity score-matching study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Hepatobiliary Pancreat Sci.	6. 最初と最後の頁 127-136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jhbp.431.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hiwatashi K, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Minami K, Yonemori K, Nishizono Y, Kurahara H, Mataka Y, Maemura K, Shinchi H, Natsugoe S.	4. 巻 36
2. 論文標題 Expression of Maternal Embryonic Leucine Zipper Kinase (MELK) Correlates to Malignant Potentials in Hepatocellular Carcinoma.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 5183-5188.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7150/jca.13759	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Beppu T, Imai K, Okuda K, Eguchi S, Kitahara K, Tani ai N, Ueno S, Shirabe K, Ohta M, Kondo K, Nanashima A, Noritomi T, Shiraishi M, Takami Y, Okamoto K, Kikuchi K, Baba H, Fujioka H.	4. 巻 24
2. 論文標題 Anterior approach for right hepatectomy with hanging maneuver for hepatocellular carcinoma: a multi-institutional propensity score-matching study.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J Hepatobiliary Pancreat Sci.	6. 最初と最後の頁 127-136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jhbp.431	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Beppu T, Okabe H, Okuda K, Eguchi S, Kitahara K, Tani ai N, Ueno S, Shirabe K, Ohta M, Kondo K, Nanashima A, Noritomi T, Okamoto K, Kikuchi K, Baba H, Fujioka H.	4. 巻 S1072-7515
2. 論文標題 Portal Vein Embolization Followed by Right-Side Hemihepatectomy for Hepatocellular Carcinoma Patients: A Japanese Multi-Institutional Study.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Am Coll Surg	6. 最初と最後の頁 1-12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hiwatashi K, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Minami K, Mori S, Kita Y, Baba K, Kurahara H, Mataka i Y, Maemura K, Shinchi H, Natsugoe S	4. 巻 18
2. 論文標題 The Evaluation of Liver Function and Surgical Influence by ICGR15 after Chemotherapy for Colorectal Liver Metastases.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 J Cancer	6. 最初と最後の頁 595-599
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.13759	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Hiwatashi K, Ueno S, Sakoda M, Iino S, Minami K, Yamasaki Y, Okubo K, Noda M, Kurahara H, Mataka i Y, Maemura K, Shinchi H, Natsugoe S.	4. 巻 6
2. 論文標題 Problems of Long Survival Following Surgery in Patients with NonBNonC-HCC: Comparison with HBV and HCV Related-HCC.	5. 発行年 2015年
3. 雑誌名 J Cancer	6. 最初と最後の頁 438-447
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.10398	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Suzuki S, Kofune H, Uozumi K, Yoshimitsu M, Arima N, Ishitsuka K, Ueno S, Kosai K	4. 巻 29
2. 論文標題 A Survivin-Responsive, Conditionally Replicating Adenovirus Induces Potent Cytocidal Effects in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 516-525
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-019-5730-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 又木 雄弘(鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科消化器・乳腺甲状腺外科), 前村 公成, 蔵原 弘, 川崎 洋太, 橋口 真征, 迫田 雅彦, 飯野 聡, 上野 真一, 新地 洋之, 夏越 祥次
2. 発表標題 当科で経験したS-1併用過分割照射による膵癌症例の検討
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 前村 公成(鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科消化器・乳腺甲状腺外科), 又木 雄弘, 蔵原 弘, 川崎 洋太, 橋口 真征, 飯野 聡, 迫田 雅彦, 上野 真一, 新地 洋之, 夏越 祥次
2. 発表標題 リンパ節転移からみた十二指腸乳頭部癌に対する治療戦略
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 蔵原 弘(鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科腫瘍制御学消化器乳腺甲状腺外科), 前村 公成, 又木 雄弘, 迫田 雅彦, 飯野 聡, 川崎 洋太, 橋口 真征, 上野 真一, 新地 洋之, 夏越 祥次
2. 発表標題 切除可能膵癌に対する新たな治療戦略(英語)
3. 学会等名 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	前村 公成 (Maemura Kosei) (30398292)	鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・特任准教授 (17701)	
研究分担者	迫田 雅彦 (Sakoda Masahiko) (40418851)	鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教 (17701)	
研究分担者	夏越 祥次 (Natsugoe Shoji) (70237577)	鹿児島大学・医歯(薬)学総合研究科・教授 (17701)	
研究分担者	飯野 聡 (Iino Satoshi) (80598003)	鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教 (17701)	
研究分担者	樋渡 清司 (Hiwatashi Kiyokazu) (80721216)	鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・医員 (17701)	