

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K10869

研究課題名(和文) 骨軟部腫瘍への免疫遺伝子を搭載した増殖型ウイルスの開発

研究課題名(英文) Development of the novel oncolytic immuno-virotherapy for bone and soft tissue tumors

研究代表者

伊地知 暢広 (IJICHI, NOBUHIRO)

鹿児島大学・医歯学域医学系・助教

研究者番号：80380624

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：免疫誘導遺伝子を搭載した腫瘍溶解性ウイルスは、革新的な「がん免疫遺伝子・ウイルス治療」として期待されている一方、免疫誘導遺伝子が過剰に誘導された場合、重篤な副作用が生じる危険性についてはほとんど認識されていない。本研究では、独自のウイルス作製技術を基盤として、種々の免疫誘導遺伝子と発現調節プロモーターとの組み合わせを網羅的に解析した。その結果、免疫誘導遺伝子を至適発現する新規腫瘍溶解性ウイルスを開発し、*in vivo*治療実験において高いがん治療効果と安全性を有することを明らかにした。本治療ウイルスは革新的ながん免疫遺伝子・ウイルス治療となることが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、次世代の「がん免疫遺伝子・ウイルス治療」の開発へ向け、ウイルスの標準作製技術がないために従来は困難であった、搭載する免疫誘導遺伝子とその発現調節プロモーターとの最適な組み合わせの網羅的検討を行った。

これにより、1)高い安全性を担保するため、これまでほとんど認識されていなかった、搭載免疫誘導遺伝子の発現制御の重要性を初めて実証した。2)免疫誘導遺伝子を至適発現する新規腫瘍溶解性ウイルスを開発し、高い安全性と治療効果を実証した。3)難治性がんの治療において、より安全かつ有効な「がん免疫遺伝子・ウイルス治療」の確立に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：Oncolytic viruses armed with cytokines promoting anti-tumor immunity have shown promise as the innovative immuno-virotherapy, but the risk of serious side effects when cytokines are over-induced is poorly recognized. In this study, we developed a novel oncolytic adenovirus that optimally expresses the cytokines by comprehensively analyzing various combinations of immunogenic genes and promoters based on our proprietary technology. We also demonstrated high efficacy and safety of this novel oncolytic virus by *in vivo* therapeutic experiments. Thus, this novel oncolytic virus may be an innovative immuno-virotherapy.

研究分野：遺伝子治療

キーワード：遺伝子治療 がん免疫遺伝子・ウイルス治療 骨軟部腫瘍

1. 研究開始当初の背景

骨肉腫、横紋筋肉腫、軟骨肉腫などの骨軟部腫瘍は、発生頻度としては低いものの、特に悪性軟部腫瘍の場合、化学療法や放射線療法などの従来療法は奏功せず、外科手術に頼らざるを得ない状況である。しかしながら、外科手術以外の骨軟部腫瘍への新しい治療戦略の開発は、現状ほとんど成功していない。

がん特異的に増殖・殺傷するよう遺伝子改変した「腫瘍溶解性ウイルス」(OV)に、免疫誘導遺伝子を搭載して劇的な癌免疫誘導を可能とする「腫瘍溶解性免疫治療(がん免疫遺伝子・ウイルス治療)」は2015年末の欧米医薬承認のように、革新的な癌免疫治療の研究分野として世界的に期待されている。当研究室では、従来技術を凌ぐ次世代OVを網羅的に作製・解析可能な唯一のプラットフォーム技術の「多因子制御の増殖型アデノウイルス:m-CRA」を独自開発した。実際にスクリーニング的に見出した第一弾医薬のSurv.m-CRAは、既存・競合医薬の性能を凌ぎ、標準治療無効の骨軟部肉腫を対象とした本学でのFirst-in-humanの医師主導治験でも高い安全性に加え有望な治験効果を示しつつある。

OVの作用機序として、ウイルス自体が癌細胞内で特異的に増殖し、さらに感染が広がり、癌細胞を殺傷していくという直接作用だけでなく、癌抗原の創出に伴う細胞性免疫を中心とする全身性の抗腫瘍免疫を誘導することが共通認識となりつつある。近年、免疫誘導遺伝子を搭載することで、さらに効率よく全身性の抗腫瘍免疫を誘導し、転移巣をも治療可能な次世代OVの開発が進められている。しかしながら、OVから免疫誘導因子が過剰に誘導された場合に重篤な副作用が生じる危険性についてはこれまでほとんど認識されていない。

2. 研究の目的

前項の経緯から、研究代表者らは、安全かつ有効ながん免疫遺伝子・ウイルス治療の開発には、搭載する免疫誘導遺伝子の至適発現レベルを誘導・制御するプロモーターの比較検討が重要であると考えた。このアプローチは、当研究室で独自開発したm-CRA作製プラットフォーム技術があつて初めて可能である。そこで本研究では、各種プロモーター制御下に免疫誘導遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAを網羅的に構築・比較検討することで、全身性抗腫瘍免疫を効率よく誘導して転移癌も治療でき、安全性と治療効果で競合技術を凌駕する、次世代のがん免疫遺伝子・ウイルス治療を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 免疫誘導遺伝子搭載新規Surv.m-CRAの網羅的構築とin vitro 検証

独自開発したSurv.m-CRA作製技術を基盤として、発現強度や特異性の異なる種々のプロモーター制御下にマウス及びヒトの種々の免疫誘導遺伝子を発現する新規Surv.m-CRAベクターを網羅的に構築した。これら新規Surv.m-CRAのin vitroにおける感染実験により、免疫誘導遺伝子の発現検証及びがん細胞殺傷効果を検討した。

(2) 免疫誘導遺伝子搭載新規Surv.m-CRAのin vivo 機能検証

ヒトアデノウイルス5型の細胞内増殖が確認されているハムスターをin vivo 検証モデル動物とし、ハムスター由来の腫瘍細胞株を移植した、シンジェニック担癌ハムスターモデルを構築した。その腫瘍内に種々の免疫誘導遺伝子搭載Surv.m-CRAを注入し、腫瘍抑制効果や生存延長効果、及び免疫誘導などを検討し、癌治療効果及び安全性について評価した。

4. 研究成果

本研究では、マウス及びヒトの免疫誘導遺伝子と各種プロモーターとの様々な組み合わせによる10数種類の新規Surv.m-CRAを効率よく構築でき、独自開発のm-CRA作製プラットフォーム技術の有用性を改めて実証した。これら種々の新規Surv.m-CRAの中で、マウスの免疫誘導遺伝子Xと、その候補プロモーターとして、がん特異的かつ中程度のプロモーターA、恒常的かつ中程度のプロモーターB、及び恒常的かつ強力なプロモーターCとをそれぞれ組み合わせ、3種類の新規Surv.m-CRAについて検証を行った(図1)。

まず、ハムスターのがん細胞を用いたin vitro 感染実験において、各プロモーターの強度・特異性依存的な免疫誘導遺伝子Xの発現を確認した。さらに、いずれのプロモーターにおいてもウイルス増殖に伴う、同程度の強力かつ、がん細胞特異的な細胞殺傷効果が観察された。

次に、シンジェニックハムスター皮下腫瘍モデルに対する治療実験において、プロモーターAは他の2つのプロモーターと比べ低い発現誘導レベルであったものの、同程度の腫瘍抑制効果(図2)及び抗腫瘍免疫誘導能を示した。特筆すべきことに、プロモーターCでは投与初期において、免疫誘導遺伝子Xの過剰発現に伴うサイトカインシンドローム様の重篤な副作用が観察され、一部の投与個体が死亡した。一方、プロモーターAでは、同所移植モデルにおいて最も長い生存期間が観察された。

これらの結果から、OVに搭載する免疫誘導遺伝子の至適発現調節の重要性が示唆される結果となり、プロモーターA制御下にマウスの免疫誘導遺伝子Xを発現するSurv.m-CRAが安全性と治療効果で競合技術を凌駕する革新的な遺伝子・ウイルス治療薬となる可能性が示唆された。既に、プロモーターA制御下にヒトの免疫誘導遺伝子Xを発現するSurv.m-CRAが、ハムスターモデルにおいても免疫活性化を誘導する傾向が得られ、標準ハムスターモデルを用いた非臨床開発へと進展可能であるデータを得ている。したがって、今回の研究結果は基礎研究と臨床応用の両面において意義のある成果であると考えられる。

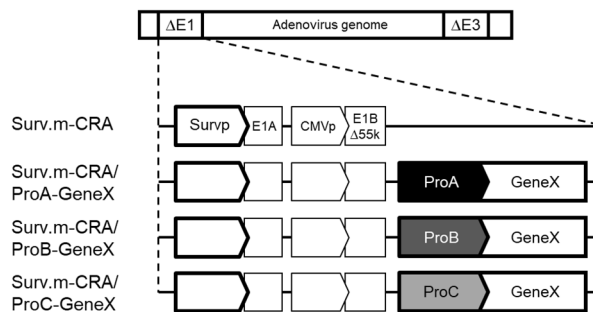


図1 免疫誘導遺伝子搭載Surv.m-CRAの構築

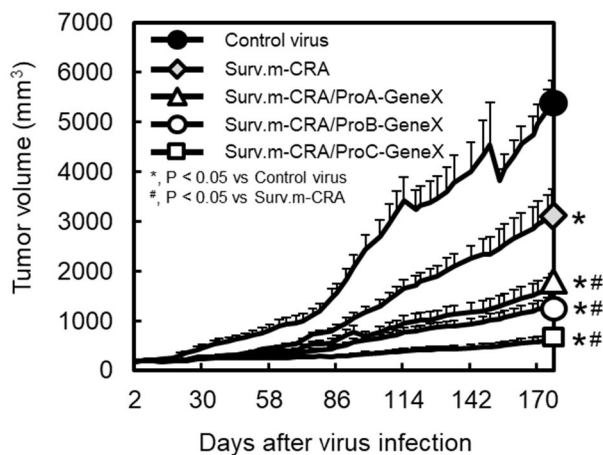


図2 免疫誘導遺伝子搭載Surv.m-CRAの腫瘍抑制効果

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ide K, Mitsui K, Irie R, Matsushita Y, Ijichi N, Toyodome S, Kosai KI.	4. 巻 36
2. 論文標題 A Novel Construction of Lentiviral Vectors for Eliminating Tumorigenic Cells from Pluripotent Stem Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells	6. 最初と最後の頁 230-239
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/stem.2725	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 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Satoshi Nagano, Toshitaka Futagawa, Eriko Sumi, Nobuhiro Ijichi, Munekazu Yamaguchi, Masanori Nakajo, Teruto Hashiguchi, Yasuo Takeda, Takashi Yoshiura, Akira Shimizu, Muneo Takatani, Setsuro Komiya and Ken-ichiro Kosai
2. 発表標題 Phase I study of potentially "best-in-class" survivin-responsive conditionally replicating adenovirus for advanced sarcoma actually demonstrates potent and long-term efficacy and high safety
3. 学会等名 AACR Annual Meeting 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ken-ichiro Kosai, Satoshi Nagano, Toshitaka Futagawa, Eriko Sumi, Nobuhiro Ijichi, Munekazu Yamaguchi, Masanori Nakajo, Teruto Hashiguchi, Yasuo Takeda, Takashi Yoshiura, Akira Shimizu, Muneo Takatani, Setsuro Komiya
2. 発表標題 Phase I Study of Potentially "Best-in-Class" Survivin-Responsive Conditionally Replicating Adenovirus for Advanced Sarcoma Actually Demonstrates Potent and Long-Term Efficacy and High Safety
3. 学会等名 ASGCT 21st Annual Meeting 2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小賤 健一郎、永野 聡、伊地知 暢広、二川 俊隆、角 栄里子、山口 宗一、中條 正典、橋口 照人、武田 泰生、吉浦 敬、清水 章、高谷 宗男、小宮 節郎
2. 発表標題 次世代の腫瘍溶解性ウイルス・免疫遺伝子治療の独自開発と実用化を目指したFirst-in-human医師主導治験
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊地知 暢広、田上 聖徳、小賤 健一郎
2. 発表標題 独自開発の多因子制御によるがん特異的増殖型アデノウイルスの 肝癌幹細胞への革新的治療作用
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) による腫瘍溶解・免疫ノ 遺伝子ウイルス治療への開発
3. 学会等名 第16回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊地知 暢広、川上 広高、小宮 節郎、小賤 健一郎
2. 発表標題 増殖制御型アデノウイルスによる癌・再生医学研究へのハムスターモデルの開発
3. 学会等名 第122回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤 健一郎、三井 薫、井手 佳菜子、伊地知 暢広、入江 理恵
2. 発表標題 遺伝子治療、再生医療の独自開発技術の臨床応用と発生学への展望
3. 学会等名 第122回日本解剖学会総会全国学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小賤 健一郎
2. 発表標題 癌への多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) の医師主導治験と 免疫遺伝子ウイルス治療への展望
3. 学会等名 第14回日本免疫治療学研究会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 伊地知 暢広、小賤 健一郎	4. 発行年 2017年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 347
3. 書名 次世代がん治療 第3編 ウイルスを用いたがん治療 第3章 ウイルス治療薬開発 『独自開発の多因子増殖制御型アデノウイルス (m-CRA) 技術による遺伝子・ウイルス治療薬の臨床開発と実用化の展望』	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性がんまで効果的に治療可能な、搭載する免疫誘導遺伝子の最適発現レベルを与える発現制御システムを有する腫瘍溶解性ウイルス (腫瘍溶解性免疫治療)	発明者 小賤 健一郎、伊地知 暢広	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2018/041541	出願年 2018年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 安全を確保しながら転移性がんまで効果的に治療可能な、搭載する免疫誘導遺伝子の最適発現レベルを与える発現制御システムを有する腫瘍溶解性ウイルス (腫瘍溶解性免疫治療)	発明者 小賤 健一郎、伊地知 暢広	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2017-215579	出願年 2017年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	小賤 健一郎 (KOSAI KEN-ICHIRO) (90258418)	鹿児島大学・医歯学域医学系・教授 (17701)	