

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：32651

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16500

研究課題名（和文）ゲノム編集ハイスループットノックアウトによる腫瘍溶解性ウイルスの細胞傷害性の解明

研究課題名（英文）Elucidation of cytotoxicity mechanism for oncolytic virus by genome-editing high-throughput knockout

研究代表者

宮本 将平（Miyamoto, Shohei）

東京慈恵会医科大学・医学部・講師

研究者番号：20758536

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、遺伝子を自由に改変可能なゲノム編集技術により様々な遺伝子を欠失させた癌細胞集団を作製し、その癌細胞集団を用いて、腫瘍溶解性ウイルスであるコクサッキーウイルスB群3型（CVB3）の細胞傷害性に必要な遺伝子を同定する。CVB3の癌細胞殺傷メカニズムを詳細に理解し、ウイルス感染に必要な受容体の発現のみならず、CVB3の殺細胞効果に必要な遺伝子を把握することで、治療を受ける患者の適応基準を科学的に設定することが可能になる。本研究では、次世代シーケンスの結果を解析し、レンチウイルスに組み込まれたバーコード配列を識別し、さらに様々な遺伝子候補の同定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、これまでにCVB3の細胞傷害性に関して報告のない遺伝子が多く見つかっており、さらに報告のないシグナル経路がウイルス増殖に関連している可能性が示唆され、今後のウイルス療法開発に重要な鍵となることが予想される。

また、本研究で同定された遺伝子が他のエンテロウイルスに関与しているかどうか解析することにより、他のエンテロウイルスに対する治療薬の開発に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we developed cancer cell line populations in which various genes were deleted by genome editing technology and identified genes required for cytotoxicity of an oncolytic virus, coxsackievirus group B type 3 (CVB3), using them. We used the cancer cell populations to generate coxsackievirus group B type 3, an oncolytic virus.

By understanding the cytotoxicity mechanism of CVB3 in detail, it becomes possible to scientifically set adaptation criteria. In this time, we analyzed the results of next-generation sequencing, identified the barcode sequence integrated into the lentivirus, and successfully identified various gene candidates of CVB3 cytotoxicity.

研究分野：ウイルス療法

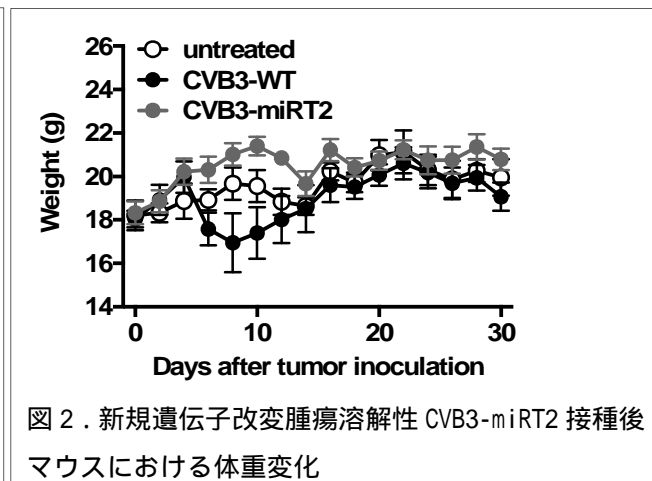
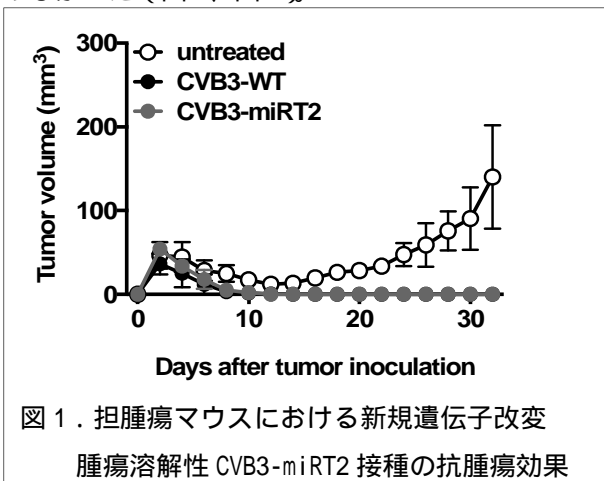
キーワード：ウイルス療法

## 1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍は日本国民の死因の第1位であり、2016年には372,986人が死亡しており、年々増加の一途を辿っている。早期発見例における治療成績のみならず罹患後の生存期間も延長してはいるが、悪性腫瘍による死亡率は依然として高い。特に難治性及び希少がんは有効な治療法が非常に少なく、新規治療法の導入が望まれている。近年、ウイルスの腫瘍細胞内での特異的増殖と腫瘍溶解性を誘導し、抗腫瘍活性を期待する「腫瘍溶解性ウイルス療法」(以下ウイルス療法と略)が開発され、2015年米国でGM-CSF産生複製可能遺伝子改変1型単純ヘルペスウイルス(以下HSV)(IMLYGIC®)を用いたウイルス療法が悪性黒色腫を対象に承認され、日本においても遺伝子改変HSVを用いた臨床研究が脳腫瘍患者に実施されており、安全性と有効性が示されてきている。現在ウイルス療法の臨床的安全性と腫瘍特異性は確認されてきているが治療効果は限定的であり、さらなる改良が望まれる。

我々は新規ウイルス療法の開発を目的に、ピコルナウイルス科・エンテロウイルス属に着目して、これまでに38種類のウイルスを各種ヒト癌細胞株及び正常細胞に*in vitro*で感染させ、これらの細胞傷害効果について比較検討した。その結果、CVB3が正常肺線維芽細胞を傷害することなく、複数の肺癌細胞を特異的に溶解することを発見し、担ヒト肺癌ヌードマウスを用いた*in vivo*研究において原発及び転移巣で抗腫瘍効果を誘導することを報告した。また、近年ウイルス療法の抗腫瘍効果誘導機構として、ウイルス感染による腫瘍の直接的破壊後に続く抗腫瘍免疫応答が重要因子であることが明らかになってきている。我々は、腫瘍溶解性ウイルスで初めてCVB3が抗腫瘍免疫誘導能を有すること、すなわちHMGB1の細胞質放出及びCalreticulin細胞膜移行を見出した。(Miyamoto et al. *Can Res.* 2012)。

しかしながら、野生型CVB3は高用量投与によりヒトで臓器障害を発生させる可能性が示唆されたため、正常細胞でのウイルス増殖を抑制させる目的で、正常細胞に特異的に発現するmiRNAの結合配列を組み込んだ遺伝子改変CVB3-miRTを作製し、現在では高用量を投与してもCVB3の副作用を完全に抑え込んだ改良型CVB3-miRT2の作製に成功した。また、担癌マウスモデルにおいてCVB3-miRT2は野生型と同等の抗腫瘍効果を保持しつつ、CVB3の副作用である体重減少を認めなかった(図1、図2)。



また、CVB3-miRT2において臨床応用を念頭に置いた完全閉鎖系精製法を確立し、サル及びマウスにおける非臨床毒性試験を実施した結果、いずれの用量においても重篤な有害事象の発生は認められず、CVB3-miRT2を用いた臨床展開の可能性が見出せた。

CVB3の感染及び増殖に関しては古くから研究が進んでおり、感染受容体は他の研究グループよりCoxsackievirus and Adenovirus receptor (CAR)とDecay-accelerating factor (DAF)が報告されているが、増殖に関与する細胞内シグナルに関しては幾つかの報告があるものの未だ解明されていない。臨床応用の際の適応基準を設定するためには、癌細胞の感染受容体の発現の有無のみならず、癌細胞内におけるCVB3の増殖に関与するシグナルの発現を明らかにすることが極めて重要である。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、ゲノム編集ハイスループットノックアウトライブラリーを利用し様々な遺伝子を欠失させた癌細胞集団を用いてウイルスによる殺傷に必要な遺伝子を同定することでCVB3の癌細胞殺傷メカニズムに関して詳細に理解し、臨床試験を行うにあたり適応される患者の基準を科学的に設定することである。近年、ゲノム配列特異的なヌクレアーゼを利用して、標的遺伝子を改変する「ゲノム編集」技術が活発になってきており、現在は研究者がCRISPR-Cas9システム等を用いて容易に遺伝子の編集が可能になった。ゲノム編集ハイスループットノックアウトライブラリーを利用したCVB3の増殖に必要な遺伝子の研究は国内外に例はなく、本研究

で得られた CVB3 の増殖に必要とされる遺伝子は、ウイルス学及び疫学的に非常に貴重な知見となり得る。一般的に CVB3 を含むエンテロウイルスによる感染症は対処療法しかないため、本研究で得られた成果は、そのウイルス増殖に必要な遺伝子発現を抑える薬剤を開発することによって、ポリオウイルスによる急性灰白髄炎やエンテロウイルス 71 型等による手足口病の治療薬に繋がる可能性を秘めている。

### 3. 研究の方法

#### 細胞及び培養方法

本研究に使用した NCI-H1299(H1299)細胞は American Type Culture Collection (ATCC)より購入した。H1299 細胞は 10% fetal bovine serum (FBS) 含有 RPMI 1640 培地を用いて継代培養を行い維持した。また、細胞は 37 °C、5% CO<sub>2</sub> で平衡化したインキュベーター中で培養を行った。

#### ウイルス作製

T7 polymerase を用いてプラスミドを RNA に転写し、H1299 細胞に RNA を導入した。その後、24 時間後、上清を新たに用意した H1299 細胞に加え、cytopathic effect (CPE) が 70%程度確認出来た時点で、細胞のみを回収した。細胞を凍結融解にて破砕し、ウイルス粒子を回収した。

#### Cas9 導入 H1299 細胞の作製

H1299 細胞に対して、CRISPR Cas9 Expression Vector pR-CMV-Cas9-2A-Blast (plasmid)、Lentiviral High titer packaging Mix 及び Lenti-X™ Concentrator (4X)を用いて、Cas9 導入 NCI-H1299 細胞集団を作製し、Blasticidin にて薬剤選別を行い、H1299-Cas9 細胞を樹立した。H1299-Cas9 細胞は 10% fetal bovine serum (FBS) 3.0ug/mL Blasticidin 含有 RPMI 1640 培地を用いて継代培養を行い維持した。また、細胞は 37 °C、5% CO<sub>2</sub> で平衡化したインキュベーター中で培養を行った。

#### ウイルス感染後残存細胞の回収及びゲノム回収

Invitrogen LentiPool Human CRISPR Library ユーザーガイドに従い、Genome Library のレンチウイルスを H1299 及び H1299-Cas9 細胞に感染させ、puromycin にて薬剤選別を行った。薬剤選別を行った細胞に対して CVB3 を MOI=10 で感染させ、48 時間後に生存細胞を回収した。回収した生存細胞に対して Wizard Genomic DNA Purification Kit を用いて gDNA を回収した。

#### Amplicon DNA の調製

Invitrogen LentiPool Human CRISPR Library ユーザーガイドに従い、Amplicon DNA を以下の工程に従い調製した。プライマーを用いて、1st PCR 20 cycles 行い DNA を増幅した。その後、PCR 反応系 1 本 50 µL あたり 825 ng の DNA を使用して、各プールについて 50 µL 反応系を 24 本ずつ合計 19.8 µg の DNA を使用した。

QIAquick PCR & Gel Cleanup Kit を用いて PCR 産物の精製し、1 プールについて 6 本のカラムを使用。方法はメーカーのプロトコールに従った。1 本のカラムにつき 30 µL の Buffer EB で溶出し、同一プールの溶出液を混合した。各プール、160 µL の溶出液を取得した。

プライマーを用いて、2nd PCR 20 cycles 行い DNA を増幅した。PCR 反応系 1 本 50 µL あたり 30 µL の溶出液をテンプレート DNA として使用して、各プールについて 50 µL 反応系を 5 本ずつ実施した。再度、QIAquick PCR & Gel Cleanup Kit を用いて PCR 産物の精製し、1 プールについて 1 本のカラムを使用した。1 本のカラムにつき 30 µL の Buffer EB で溶出した (図 3)。

PCR 反応組成		PCR 反応条件	
5x Phusion Green HF Buffer	10µl	98°C	20 秒
10 mM dNTPs	1.25µl	↓	
Forward Primer (10 µM)	1.0µl	98°C	10 秒
Reverse Primer (10 µM)	1.0µl	62°C	20 秒
DMSO (100%)	1.5µl	72°C	20 秒
gDNA + PCR grade water	34.75µl	↓	
Phusion DNA Polymerase (2 U/µL)	0.5µl	72°C	1 分
Total	50µl		

20 cycles

図 3. PCR の反応条件

#### ライブラリーの調製

Illumina 社製次世代シーケンサー用ライブラリをプロトコールに従い、以下の工程で調製した。AmpliconDNA を全量使用し、末端修復後に A テイル付加した。その後、イルミナシーケンサー用アダプターのライゲーション反応を行い、USERenzyme によるアダプターループ構造の切断後、磁性ビーズによる精製を実施した。精製後、13 サイクルの PCR を行い、再度磁性ビーズによる精製を行った。

その後、DNBSEQ シーケンサー用ライブラリへの Conversion ため、MGIEasy Universal Library Conversion Kit を用いて、Illumina 社次世代シーケンサー用ライブラリを以下の工程に従い、Conversion した。精製済みライブラリを 50ng 使用し、Conversion 用アダプターを使用して 5 サイクル PCR を実施した。その後、磁性ビーズによる精製を行い、熱変性後、環状一本鎖 DNA を生成した。再度、磁性ビーズによる精製を実施し、Conversion を完了させた。

## シーケンス

DNBSEQ-G400RS(MGI 社)を用いて、シーケンスを実施した。取得データを解析プログラムを使用して解析した。解析プログラムは、Cutadapt version 3.4、Bowtie2 version 2.4.4、MAGeCK version 0.5.9.5を使用した。プログラム Cutadapt を用いて(1塩基ミスマッチ許容)、各リードから sgRNA の配列を抽出後、プログラム Bowtie2 を使用して、デフォルト設定で sgRNA 参照配列にアライメントし、sam ファイルを作成した。プログラム MAGeCK(コマンド magecktest)を使用して、デフォルト設定でノーマライズ(median normalization)を行い、Nomal プール(control sample として指定)と Cas プール(treatment sample として指定)を比較させ、sgRNA 単位の比較(log2 fold change)と gene 単位の比較(robust rank aggregation, RRA method)を実施した。

## 4. 研究成果

ゲノム編集ハイスループットノックアウトライブラリーにおける CVB3 感染残存細胞 DNA の回収ライブラリーウイルスを用いてノックアウトさせる癌細胞の樹立を試みた。本ライブラリーが正しく機能しノックアウトするためには、Cas9 を恒常発現している細胞を樹立する必要がある。まず、CVB3 に感受性の高い NCI-H1299 細胞(肺癌)に Cas9 を導入し、H1299-Cas9 細胞を樹立した。次に、本 H1299-Cas9 細胞を用いてノックアウトした細胞集団に CVB3 を均等に感染させることが可能なウイルス量の検討を実施したところ、MOI=10 で感染させることで、ほぼ全て細胞を殺傷することが可能であると判明した。今後は MOI=10 で 24 時間感染させることを基準に実験を進めた。

次に、レンチウイルスライブラリーを H1299-Cas9 細胞に感染させ、ノックアウト細胞集団を作製し、上記で設定した感染力価で CVB3 を感染させ、生存した細胞を回収した。回収後、細胞からゲノムを抽出し、Agilent 4200 TapeStation により DNA Integrity Number (DIN) を計測した。Agilent 4200 TapeStation の電気泳動像から回収した DNA の分解度を算定したところ(10 点を満点とし、0 に近いほど DNA の分解を受けている)どの DNA も 9 前後であり、十分にシーケンスに供与可能なレベルであることが明らかとなった(図 4)。

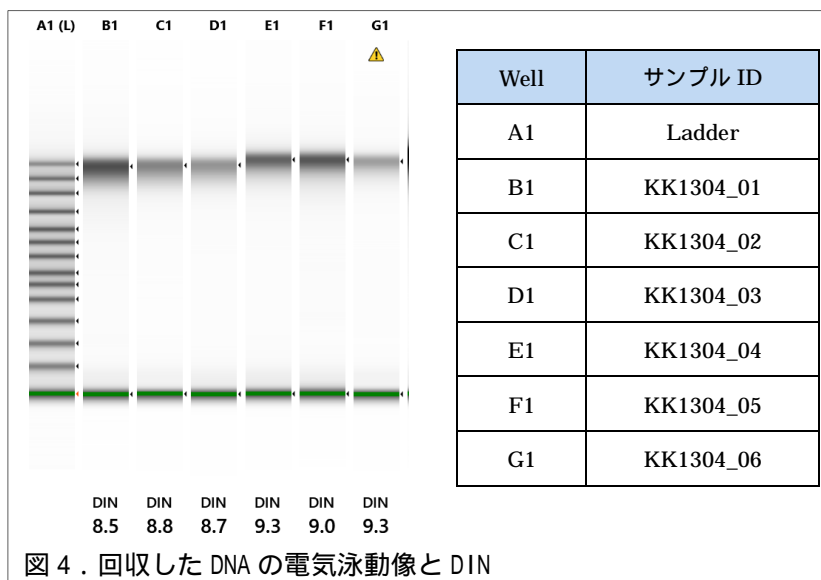


図 4. 回収した DNA の電気泳動像と DIN

## ノックアウトライブラリーによる CVB3 の細胞傷害性に関する遺伝子の同定

残存細胞より回収した DNA を用いて、次世代シーケンスに供与するライブラリーの作製を実施した。ライブラリー作製後、次世代シーケンスを実施した(図 5)。

No.	Sample ID	Sample Name	取得リードペア数
1	KK1304_01, _02, _03	Nomal 1, 2, 3	655,969,062
2	KK1304_04, _05, _06	Cas 1, 2, 3	615,178,198

図 5. シーケンス取得データ

取得データは十分解析に足るものであったため、その後データを用いて解析を実施した。Nomal プール(control sample として指定)と Cas プール(treatment sample として指定)を比較し、sgRNA 単位の比較(log2 fold change)と遺伝子単位の比較(robust rank aggregation, RRA method)を実施した。(データの遺伝子名は a, b, c, , , , とアルファベットで記載)

sgRNA 毎の比較では、ノックアウト細胞で多く挿入されていたバーコードは上位 30 sgRNA の中で重複はなく、様々な遺伝子の gRNA が各々一つずつ認められた(図 6)。

Gene	control_cou	treatment_c	control_mea	treat_mean	LFC	control_var	adj_var	score	p.low	p.high	p.twosided	FDR
a-1	0	2878.5	1.2087	2878.5	10.348	4.14E+06	40.538	451.92	1	0	0	0
b-1	0	2727.5	1.2087	2727.5	10.271	3.72E+06	40.538	428.19	1	0	0	0
c-1	0	2563.9	1.2087	2563.9	10.182	3.29E+06	40.538	402.51	1	0	0	0
d-1	0	2415.4	1.2087	2415.4	10.095	2.92E+06	40.538	379.17	1	0	0	0
e-1	0	2414.5	1.2087	2414.5	10.095	2.92E+06	40.538	379.04	1	0	0	0
f-1	0	2350.6	1.2087	2350.6	10.056	2.76E+06	40.538	369.01	1	0	0	0
g-1	0	2132.3	1.2087	2132.3	9.9157	2.27E+06	40.538	334.72	1	0	0	0
h-1	0	2114.1	1.2087	2114.1	9.9033	2.23E+06	40.538	331.85	1	0	0	0
i-1	0	2062.6	1.2087	2062.6	9.8678	2.13E+06	40.538	323.77	1	0	0	0
j-1	0	2000.4	1.2087	2000.4	9.8236	2.00E+06	40.538	313.99	1	0	0	0
k-1	0	1997	1.2087	1997	9.8212	1.99E+06	40.538	313.47	1	0	0	0
l-1	0	1960.5	1.2087	1960.5	9.7946	1.92E+06	40.538	307.73	1	0	0	0
m-1	0	1937.3	1.2087	1937.3	9.7774	1.88E+06	40.538	304.08	1	0	0	0
n-1	0	1896.6	1.2087	1896.6	9.7468	1.80E+06	40.538	297.7	1	0	0	0
o-1	0	1890.8	1.2087	1890.8	9.7424	1.79E+06	40.538	296.78	1	0	0	0

図 6 . sgRNA 比較データ (上位 15 候補)

また、遺伝子毎の比較においては、驚くべきことに上位 30 に sgRNA の上位 30 に存在した遺伝子は、存在しておらず、全て違う遺伝子が新たな候補として浮かび上がった (図 7)。本結果より、各々の上位を対象に今後の実験を進めることとした。

Gene	num	neg score	neg p-value	neg fdr	neg rank	neg goodsgr	neg lfc	pos score	pos p-value	pos fdr	pos rank	pos goodsgr	pos lfc
A	10	0.99922	0.99919	0.999996	18178	0	1.6548	1.76E-06	1.17E-05	0.106436	1	9	1.6548
B	5	1	1	0.999996	18209	0	5.9562	2.10E-06	7.34E-06	0.106436	2	5	5.9562
C	10	0.47999	0.74428	0.999996	12906	2	0.92816	3.05E-06	2.37E-05	0.143564	3	6	0.92816
D	9	0.031126	0.12181	0.945458	2208	3	5.2492	9.00E-06	7.69E-05	0.269183	4	6	5.2492
E	10	0.89342	0.95537	0.999996	16962	2	0.12245	1.38E-05	0.0001112	0.269183	5	4	0.12245
F	7	0.95271	0.95591	0.999996	17504	1	6.9333	1.39E-05	8.70E-05	0.269183	6	5	6.9333
G	7	0.98441	0.9844	0.999996	17843	0	5.9562	1.62E-05	0.00010793	0.269183	7	5	5.9562
H	7	0.027972	0.10105	0.936475	2035	3	6.813	2.05E-05	0.00013077	0.269183	8	4	6.813
I	10	0.99146	0.99173	0.999996	17971	1	4.2041	2.61E-05	0.00021179	0.269183	9	9	4.2041
J	7	0.99855	0.99856	0.999996	18160	0	6.6766	3.15E-05	0.00020254	0.269183	10	7	6.6766
K	10	0.71834	0.88374	0.999996	15511	3	0.073373	3.40E-05	0.00028139	0.269183	11	4	0.073373
L	7	0.94433	0.9507	0.999996	17437	1	5.161	3.89E-05	0.0002455	0.269183	12	6	5.161
M	9	0.3741	0.6451	0.999996	11383	2	5.4974	4.34E-05	0.00033467	0.269183	13	6	5.4974
N	8	0.34251	0.60538	0.998405	10905	2	3.5694	4.36E-05	0.00031673	0.269183	14	6	3.5694
O	9	0.38247	0.65273	0.999996	11511	1	4.5236	4.57E-05	0.00034664	0.269183	15	7	4.5236

図 7 . 遺伝子比較データ (上位 15 候補)

次に、上位遺伝子の一部を個別にノックアウトした細胞を樹立するために、レンチウイルスにて gRNA を導入して、そのノックダウン効率を確認したところ、完全にノックアウトされていない事例が認められた。現在は、完全にノックダウンできる gRNA を選別しており、その細胞傷害性抵抗性への影響を再確認している。

本研究において CVB3 の細胞傷害性に影響を与える可能性がある遺伝子候補を同定することに成功した。しかしながら、その遺伝子の影響力を評価することができていないため、今後も個別に遺伝子をノックアウトさせていくことで確認していく予定である。また、今後はデータベースを利用し、候補遺伝子を用いて細胞傷害性に関与しているシグナル経路等を解明していくことで、癌細胞殺傷メカニズムに関して詳細に理解することを予定している。一般的にエンテロウイルスによる感染症は対処療法しかないため、本研究で得られた成果は、そのウイルス増殖に必要な遺伝子発現を抑える薬剤を開発することによって、ポリオウイルスによる急性灰白髄炎やエンテロウイルス 71 型等による手足口病の治療薬に繋がる可能性を秘めている。また、本研究成果により、腫瘍溶解性ウイルス療法を用いた臨床試験を行うにあたり適応される患者の基準を科学的に設定することが可能になると期待している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 SAGARA MIYAKO, MIYAMOTO SHOHEI, ITOH SHUN, SODA YASUSHI, TANI KENZABURO	4. 巻 41
2. 論文標題 Development of New Oncolytic Virotherapy Targeting Breast Cancer Using Coxsackievirus B3	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 81 ~ 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.14753	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Jia Yang, Miyamoto Shohei, Soda Yasushi, Takishima Yuto, Sagara Miyako, Liao Jiyuan, Hirose Lisa, Hijikata Yasuki, Miura Yoshie, Hara Kenichiro, Iwanaga Atsufumi, Ota Yasunori, Tani Kenzaburo	4. 巻 12
2. 論文標題 Extremely Low Organ Toxicity and Strong Antitumor Activity of miR-34-Regulated Oncolytic Coxsackievirus B3	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Molecular Therapy - Oncolytics	6. 最初と最後の頁 246 ~ 258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.omto.2019.01.003	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 Kohara H, Utsugisawa T, Sakamoto C, Hirose L, Ogawa Y, Ogura H, Sugawara A, Liao J, Aoki T, Iwasaki T, Asai T, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Abe T, Kurita R, Miyamoto S, Sakuma T, Shiba M, Yamamoto T, Ohga S, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Kojima S, Kanno Hi, Tani K	4. 巻 73
2. 論文標題 KLF1 mutation E325K induces cell cycle arrest in erythroid cells differentiated from congenital dyserythropoietic anemia patient-specific induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Hematology	6. 最初と最後の頁 25 ~ 37.e8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2019.03.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tahara Maino, Takishima Yuto, Miyamoto Shohei, Nakatsu Yuichiro, Someya Kenji, Sato Moritoshi, Tani Kenzaburo, Takeda Makoto	4. 巻 116
2. 論文標題 Photocontrollable mononegaviruses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 201906531
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1906531116	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 Hirose Lisa, Hiramoto Takafumi, Tian Yamin, Kohara Hiroshi, Kobayashi Seiichiro, Nagai Etsuko, Denda Tamami, Tanaka Yukihisa, Ota Yasunori, Jiyuan Liao, Miyamoto Shohei, Miura Yoshie, Hijikata Yasuki, Soda Yasushi, Inoue Takashi, Okahara Norio, Itoh Toshio, Sasaki Erika, Tojo Arinobu, Uchimaru Kaoru, Tani Kenzaburo	4. 巻 49
2. 論文標題 A pilot study to establish human T cell leukemia virus type 1 (HTLV 1) carrier model using common marmoset ( <i>Callithrix jacchus</i> )	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Medical Primatology	6. 最初と最後の頁 86 ~ 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jmp.12454	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakamoto Akira, Inoue Hiroyuki, Miyamoto Shohei, Ito Shun, Soda Yasushi, Tani Kenzaburo	4. 巻 13
2. 論文標題 Coxsackievirus A11 is an immunostimulatory oncolytic virus that induces complete tumor regression in a human non-small cell lung cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 (1):5924.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-33126-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Ito S, Miyamoto S, Sagara M, Sakamoto A, Soda Y, Akiyama T, Tani K
2. 発表標題 Development of gene modified oncolytic coxsackievirus for clinical trial.
3. 学会等名 第27回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakamoto A, Yasunari K, Inoue H, Miyamoto S, Sagara M, Ito S, Soda Y, Akiyama T, Tani K
2. 発表標題 A novel Echovirus 4 shows noticeable oncolytic activity against esophageal cancer.
3. 学会等名 第27回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ito S, Miyamoto S, Sagara M, Sakamoto A, Soda Y, Akiyama T, Tani K
2. 発表標題 Development and manufacturing of miRNA-regulated oncolytic virus for clinical trial.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sakamoto A, Inoue H, Miyamoto S, Sagara M, Ito S, Soda Y, Akiyama T, Tani K
2. 発表標題 A novel Echovirus 4 shows remarkable oncolytic capacity against esophageal cancer.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮本将平
2. 発表標題 トリプルネガティブ乳癌に対するマイクロRNA標的配列搭載腫瘍溶解性ウイルス療法
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬理沙、小原洋志、相良京、三浦由恵、土方康基、曾田泰、宮本将平、廖紀元、高橋聡、篠崎大、大田泰徳、渡辺恵理、田中徹、中島元夫、木庭幸子、奥山隆平、福原秀雄、井上啓史、並川努、花崎和弘、谷憲三朗
2. 発表標題 5-ALAを用いた末梢血循環がん細胞の検出法確立にむけたパイロット研究
3. 学会等名 第9回ポルフィリン-ALA学会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 Miyamoto S, Jia Y, Soda Y, Sagara M, Liao J, Hirose L, Hijikata Y, Hara K, Iwanaga A, Tani K
2. 発表標題 Dual microRNA Engineered Oncolytic Coxsackievirus Virotherapy for Clinical Trial.
3. 学会等名 American Society of Gene and Cell Therapy 22nd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Liao J, Soda Y, Sugawara A, Miura Y, Hiramoto T, Tahara M, Takishima Y, Hijikata Y, Miyamoto S, Takeda M, Tani K.
2. 発表標題 Analysis of Human iPSCs Generated by a Non-Integrating Measles Virus Vector.
3. 学会等名 American Society of Gene and Cell Therapy 22nd Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyamoto S, Sagara M, Jia Y, Soda Y, Miura Y, Shimizu H, Tani K.
2. 発表標題 Development of microRNA-regulated oncolytic Coxsackievirus for clinical trial.
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miura Y, Takishima Y, Miyamoto S, Jia Y, Sagara M, Soda Y, Tani K.
2. 発表標題 Preclinical Evaluation of Novel Chondroitin Sulfate Polymer coated Oncolytic Measles virus therapy.
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ogata H, Wang B, Miyamoto S, Takishima Y, Sagara M, Tani K.
2. 発表標題 A novel combination therapy using oxaliplatin and Coxsackievirus A11 against human colorectal cancer.
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Liao J, Soda Y, Sugawara A, Miura Y, Hiramoto T, Tahara M, Takishima Y, Hijikata Y, Miyamoto S, Takeda M, Tani K.
2. 発表標題 Direct induction of naive-like human induced pluripotent stem cells (iPSCs) by a non-integrating measles virus vector.
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sagara M, Miyamoto S, Ito S, Soda Y, Miura Y, Hijikata Y, Shimizu H, Tani K.
2. 発表標題 Development of novel miRNA-regulated oncolytic virotherapy for malignant tumors.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Liao J, Soda Y, Sugawara A, Miura Y, Hiramoto T, Tahara M, Takishima Y, Miyamoto S, Hijikata Y, Takeda M, Tani K.
2. 発表標題 Measles virus vector is a promising tool for T-cell engineering and establishing naive-like iPSCs.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hirose L, Kohara H, Sagara M, Miura Y, Hijikata Y, Soda Y, Miyamoto S, Takahashi S, Shinozaki M, Denda T, Tanaka Y, Ota Y, Watanabe E, Tanaka T, Nakajima M, Kiniwa S, Okuyama R, Fukuhara H, Inoue K, Namikawa T, Hanazaki K, Tani K.
2. 発表標題 Pilot study to detect circulating tumor cells in human peripheral blood using 5-aminolevulinic acid.
3. 学会等名 第81回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kodama K, Soda Y, Liao J, Miyamoto S, Deguchi T, Fujine K, Sakata H, Tomioka M, Tani K.
2. 発表標題 Inhibition of sickling by 5-aminolevulinic acid in sickle cell disease mouse models.
3. 学会等名 7th International ALA and Porphyrin Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 廣瀬理沙、小原洋志、相良京、三浦由恵、石井有美子、土方康基、曾田泰、宮本将平、廖紀元、高橋聡、篠崎大、大田泰徳、渡辺恵理、田中徹、中島元夫、木庭幸子、奥山隆平、福原秀雄、井上啓史、並川努、花崎和弘、谷憲三朗
2. 発表標題 5-ALAを用いた末梢血循環がん細胞の検出法確立にむけたパイロット研究
3. 学会等名 第6回PDDTフォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 宮本将平、相良京、伊藤駿、坂本旭、曾田泰、谷憲三朗
2. 発表標題 第二世代遺伝子改変miRNA標的配列搭載コクサッキーウイルスB群3型の非臨床毒性試験
3. 学会等名 第28回日本遺伝子細胞治療学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyako Sagara, Shohei Miyamoto, Shun Ito, Akira Sakamoto, Yasushi Soda, Tetsu Akiyama, Kenzaburo Tani
2. 発表標題 Preclinical studies of a second-generation recombinant coxsackievirus B3
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 鎌状赤血球症の改善及び / 又は予防剤	発明者 谷憲三朗、曾田泰、 廖紀元、宮本将平、 河田聡史、富岡基	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-170764	出願年 2019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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関