

令和 3 年 5 月 9 日現在

機関番号：32610

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2020

課題番号：18H06185・19K21290

研究課題名（和文）がん治療用ヘルペスウイルスを用いた、肉腫におけるウイルス療法の検討

研究課題名（英文）Development of oncolytic virus therapy with a third-generation oncolytic herpes simplex virus type 1 for human sarcoma

研究代表者

田口 慧（Taguchi, Satoru）

杏林大学・医学部・学内講師

研究者番号：40625737

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：ウイルス療法は固形がんに対する新規治療である。肉腫は希少疾患ゆえ研究材料が得難く、肉腫におけるウイルス療法の検討はなされて来なかった。本研究は、国立がん研究センターで樹立された肉腫patient-derived xenograft (PDX)を用いて、がん治療用ヘルペスウイルスT-01の肉腫における効果をin vitroおよびin vivoで示した。T-01は本邦発のウイルス療法薬として臨床化目前のG47 と同等の機能を持つ実験用ウイルスであり、本研究成果は「肉腫に対するウイルス療法」の臨床試験へと進む大きな根拠になると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肉腫は一般に抗がん剤や放射線に対する感受性が低く難治であることから、新規治療開発が急務である。ウイルス療法は固形がんであればがん種を選ばないため肉腫に対しても有効性が期待できるが、肉腫はその希少性から検体が得難く非臨床研究が困難であった。本研究は、国立がん研究センターで患者由来の組織から樹立している肉腫PDXを用いることで、この問題をクリアした。本研究で用いたT-01は現在臨床化目前のがん治療用ヘルペスウイルスG47の実験用strainであり、本研究結果を踏まえて今後臨床試験でヒトに対するウイルス療法の有効性が示されれば、肉腫の治療体系にブレイクスルーがもたらされることが期待される。

研究成果の概要（英文）：Oncolytic virus therapy is a promising new option for cancer treatment. G47, a third-generation oncolytic HSV-1, has been demonstrated to have high safety and antitumor efficacy in clinical trials against various cancers. Sarcomas are rare intractable mesenchymal tumors, given their chemotherapy- and radiotherapy-resistance. Since oncolytic virus therapy is efficacious for any solid tumors, it can be a promising treatment strategy for sarcomas. However, few studies have evaluated oncolytic virus therapy in sarcomas, partly because the availability of sarcoma specimens is limited due to their rarity. To clear this hurdle, we used the patient-derived xenografts (PDXs) of sarcomas which were established at National Cancer Center Research Institute. T-01, an experimental strain of G47, was tested on multiple sarcoma PDXs, and was shown to have high anti-tumor efficacy both in vitro and in vivo. Oncolytic virus therapy might become a useful treatment means for sarcomas in the future.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：肉腫 がん治療用ウイルス ヘルペスウイルス PDX ウイルス療法

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 肉腫は一般に抗がん剤や放射線に対する感受性が低く難治であることから、新規治療開発が急務である。代表者らの研究室では、以前より第3世代がん治療用ヘルペスウイルス1型のG47Δを用いたウイルス療法の開発を行ってきた。ウイルス療法は理論的にはあらゆる固形がんにも有効であるため、肉腫に対しての有効性を確立できれば、治療体系のブレイクスルーとなる可能性があると考え本研究を着想した。

一方、肉腫はその希少性から検体得難く非臨床研究が困難であった。この問題を解決するため、本研究では、国立がん研究センターで患者由来の肉腫組織から樹立された肉腫 **patient-derived xenograft (PDX)**を用いることとした。

(2) 研究開始当初の国内外の研究動向としては、がん治療用ヘルペスウイルス1型の**T-VEC**が2015年に先進国初のウイルス療法薬として**FDA**に認可されたことを受け(**Andtbacka, J Clin Oncol 2015**)、ウイルス療法の研究が全世界で加速度的に行われ始めた状況であった。本邦でも、ヘルペスウイルス1型のG47Δや**HF10**、アデノウイルスの**Telomelysin**、センダイウイルスの**HVJ-E**などで複数の臨床試験が進行中であった。一方、肉腫に対するウイルス療法の研究は非常に限られていた。ウイルス療法黎明期(1990年代後半～2000年代前半)に初期のがん治療用アデノウイルス**ONYX-015**が抗がん剤との併用で検討された後は(**Galanis, Gene Ther 2005**)、骨肉腫や小児肉腫で検討された程度であり、成人の軟部肉腫を対象としたウイルス療法の検討はほとんどないのが実状であった。

## 2. 研究の目的

(1) 本研究では、国立がん研究センターで樹立された複数の肉腫**PDX**(平滑筋肉腫、未分化多形肉腫、明細胞肉腫、**CIC-DUX4**肉腫、横紋筋肉腫など)に対する**T-01**(G47Δの実験用 **strain**)の効果を検討することで、肉腫に対するウイルス療法を確立することを目的とした。

(2) 国立がん研究センターとの間で**MTA**契約を行った肉腫**PDX**は、いずれも細胞株化もなされていなかったため、**in vitro**の検討を行うことが可能であった。そのため、まず**in vitro**で**T-01**の複製能比較試験や殺細胞効果を検討した後に、肉腫**PDX**の Maus皮下腫瘍モデルを作製して、**in vivo**での**T-01**の腫瘍縮小効果を確かめることを本研究の主たる目的とした。

## 3. 研究の方法

(0) 国立がん研究センターとの間で、以下を含む複数の肉腫**PDX**の**MTA**契約を締結した。**LMS**(平滑筋肉腫)、**UPS**(未分化多形肉腫)、**CCS**(明細胞肉腫)、**CDS**(**CIC-DUX4**肉腫)、**pRMS**(横紋筋肉腫)

これらを用いて以下の検討を行った。

(1) 肉腫**PDX**由来細胞株における**T-01**の複製能比較試験 (**in vitro**)

ウイルスは組織によって複製効率が異なり、それにより最終的な殺細胞効果にも違いが生じる。肉腫**PDX**由来細胞株に一定のウイルス力価で**T-01**を感染し24時間および48時間後に細胞から内部のウイルス液を回収して、**Vero**細胞を用いた検定法によって複製後の力価を計測した。

(2) 肉腫**PDX**由来細胞株に対する**T-01**の殺細胞効果の検討 (**in vitro**)

一定数の肉腫**PDX**由来細胞株をプレートに撒き、**T-01**を2段階の力価(**MOI 0.1**および**0.01**)で感染させて、4日間に渡って生細胞数をカウントした。同日に計測した陰性対照群の生細胞数に対する割合(%)で、**T-01**の殺細胞効果を評価した。

(3) 肉腫**PDX**の Maus皮下腫瘍モデルを用いた**T-01**の腫瘍縮小効果の検討 (**in vivo**)

免疫不全マウスに肉腫**PDX**の皮下腫瘍を作製し、一定量のウイルス(**T-01**ないし**Mock**)を腫瘍内投与して定期的に腫瘍体積を計測した。**Mock**との比較により**T-01**の抗腫瘍効果を評価した。

## 4. 研究成果

(1) 肉腫**PDX**由来細胞株における**T-01**の複製能比較試験 (**in vitro**)では、検討したほぼ全ての細胞株において、**T-01**の良好な複製が確認された。

(2) 肉腫**PDX**由来細胞株における**T-01**の複製能比較試験 (**in vitro**)では、検討したほぼ全ての細胞株において、**T-01**による良好な殺細胞効果が確認された。

(3) 肉腫**PDX**の Maus皮下腫瘍モデルを用いた**T-01**の腫瘍縮小効果の検討 (**in vivo**)では、**CCS**(明細胞肉腫)および**pRMS**(多形型横紋筋肉腫)の2種類の肉腫**PDX**由来細胞株からそれぞれ Maus皮下腫瘍モデルを作製し実験を行った。いずれのモデルにおいても、**T-01**投与群は**Mock**群に比べ有意な腫瘍体積の抑制が見られ、一部の個体では腫瘍の完全消失も認められた。

<引用文献>

**Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. J Clin Oncol 2015; 33: 2780–8.**

**Galanis E, Okuno SH, Nascimento AG, et al. Phase I-II trial of ONYX-015 in combination with MAP chemotherapy in patients with advanced sarcomas. Gene Ther 2005; 12: 437–45.**

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 0件）

1. 著者名 Satoru Taguchi, Hiroshi Fukuhara, Tomoki Todo	4. 巻 49
2. 論文標題 Oncolytic virus therapy in Japan: progress in clinical trials and future perspectives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 201-209
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jjco/hyy170	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3件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田口慧、福原浩、竹島雄太、角谷成紀、内藤晶裕、久米春喜、稲生靖、藤堂具紀
2. 発表標題 緩徐増殖性腫瘍に対するプロモータ制御型がん治療用ヘルペスウイルスの活用～後腹膜脂肪肉腫での検討
3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Satoru Taguchi, Hiroshi Fukuhara, Yuta Takeshima, Shigenori Kakutani, Akihiro Naito, Haruki Kume, Tomoki Todo
2. 発表標題 Enhanced antitumor efficacy of midkine promoter-regulated oncolytic HSV-1 in slow-growing human liposarcoma
3. 学会等名 第25回日本遺伝子細胞治療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田口慧
2. 発表標題 がん治療用ヘルペスウイルスを用いた、尿路上皮癌に対する新規治療法の開発
3. 学会等名 第106回日本泌尿器科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------