

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：15301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2021

課題番号：19K23888

研究課題名（和文）腫瘍免疫療法に主眼を置いた骨軟部肉腫に対する腫瘍融解ウイルスを用いた新規治療戦略

研究課題名（英文）Oncolytic virus-mediated p53 overexpression promotes systemic antitumor immune response in osteosarcoma

研究代表者

近藤 宏也（Kondo, Hiroya）

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：40846911

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：p53自体が免疫原性細胞死にかかわる事が知られていたが、実際にOBP-702でvivoモデルに対して腫瘍免疫活性を示すことができた。また、遠隔腫瘍に対するアブスコパル効果を示すことができ、局所治療であった腫瘍融解ウイルス製剤の原発巣と遠隔巣への同時治療への応用が期待される。また全身における免疫反応の活性化を介する抗腫瘍効果が期待できるため抗PD-1等の免疫チェックポイント阻害薬との併用療法等の応用の可能性も期待できる。近年注目されている免疫細胞を中心とした腫瘍周囲微小環境の変化も注目されており治療応用の可能性、研究テーマ拡大の可能性を残すものであり非常に有意義な研究結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨軟部肉腫は系統的化学療法の導入によりその予後は改善してきたが、化学・放射線療法抵抗例や転移例など、予後不良例も多い。そのため、骨軟部肉腫に対する新規治療法の開発が重要な課題である。近年、抗PD-1抗体等、腫瘍免疫療法に対する研究が盛んに行われており、骨軟部肉腫治療の発展の為に腫瘍免疫療法は非常に重要である。骨肉腫においては免疫細胞の乏しいcold tumorが主体と考えられてきたが、腫瘍融解アデノウイルス製剤投与におけるcold tumorからhot tumorへの転換することができるのであればますます治療応用の可能性が高まる。

研究成果の概要（英文）：Although p53 itself was involved in immunogenic cell death, OBP-702 actually showed tumor immune activity against a vivo model. In addition, the abscopal effect on distant tumors was demonstrated, and it is expected to be applied to the simultaneous treatment of primary and distant tumors with tumor-dissolving viral agents, which have been used only for local treatment. In addition, the antitumor effect is expected to be mediated by activation of the immune response throughout the body, which may lead to potential applications such as combination therapy with immune check point inhibitors such as anti-PD-1. The results of this study are very significant, as they leave open the possibility of therapeutic applications and the expansion of research themes.

研究分野：腫瘍

キーワード：腫瘍融解ウイルス療法 p53 骨肉腫 免疫原性細胞死

1. 研究開始当初の背景

骨軟部肉腫は系統的化学療法の導入によりその予後は改善してきたが、化学・放射線療法抵抗例や転移例など、予後不良例も多い。そのため、骨軟部肉腫に対する新規治療法の開発が重要な課題である。近年、抗PD-1抗体等、腫瘍免疫療法に対する研究が盛んに行われており、骨軟部肉腫治療の発展の為に腫瘍免疫療法は非常に重要である。しかしながら、海外での骨肉腫に対する試験では、現在のところ効果に乏しく、骨軟部肉腫に対する免疫療法発展の為に、腫瘍免疫治療効果を増幅する補助療法の開発が重要である。腫瘍融解ウイルス製剤は直接的に腫瘍細胞を死滅させる遺伝子治療であるが、がん免疫に及ぼす影響についても報告がされてきている (Kaufman HL, 2015)。我々は腫瘍内で特異的に活性の高いヒトテロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT) のプロモーターにより増殖が制御される腫瘍選択的融解アデノウイルス製剤 (OBP-301) を開発し (Kawashima T, 2004) 米国にて各種固形腫瘍に対する第 Ⅰ相試験を終えている (Nemunaitis J et al. 2010)。また、現在岡山大学病院において食道癌に対して、OBP-301 と放射線治療との併用での第 Ⅰ/Ⅱ 相臨床試験を行っている。骨軟部肉腫においては、我々の研究で、OBP-301 抵抗性細胞株の存在が明らかとなったが、OBP-301 の E3 領域に、がん抑制遺伝子である p53 発現カセットを挿入した OBP-702 を開発し(図 1)、OBP-301 抵抗性骨肉腫細胞株に対し、アポトーシス、オートファジーを介した非常に高い抗腫瘍効果を発揮する事を明らかにした (Hasei J.2013)。p53 発現自体が、免疫原性細胞死に關与する事が複数報告されている事から、OBP-702 が骨軟部肉腫に対して高い直接的な抗腫瘍効果だけでなく、強力な免疫原性細胞死の誘導を引き起こす可能性がある。

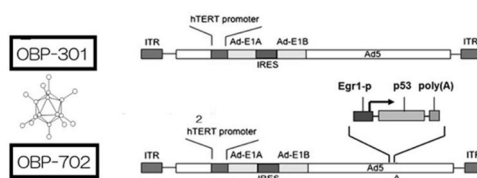


図 1 : OBP-301及び702の構造

2. 研究の目的

がん免疫療法への関心の高まりから、腫瘍融解ウイルス製剤のがん免疫に及ぼす影響に関しても世界中で研がん免疫療法への関心の高まりから、腫瘍融解ウイルス製剤のがん免疫に及ぼす影響に関しても世界中で研究が行われ始めているが、骨軟部肉腫に対する腫瘍融解アデノウイルス製剤の免疫原性細胞死の誘導に関する報告は無い。本研究は、骨軟部腫瘍に関し、申請者らが開発した OBP-301, OBP-702 の抗腫瘍効果と免疫原性細胞死の誘導効果について検討するもの(図 2)であり、免疫原性細胞死誘導が確認されれば、これまで局所療法とされてきたウイルス療法が、遠隔転移にも有効な治療法へと飛躍を遂げることとなる。本研究は、がん免疫効果増強薬剤としての有望な新規治療薬としての発展が期待でき、高い創造性と汎用性を秘めている。OBP-301, OBP-702 は申請者らが開発したものであり、本治療法の研究開発は我々にしか行えないため、極めて独創性が高く、また臨床的に有意義な研究である。本研究は、臨床応用にむけて、骨軟部肉腫に対し OBP-301, OBP-702 による免疫原性細胞死の誘導効果により、「局所のみならず遠隔転移部位への治療効果を示すか、また、そのメカニズムはどのようなものであるか」を明らかにすることを目的とする。

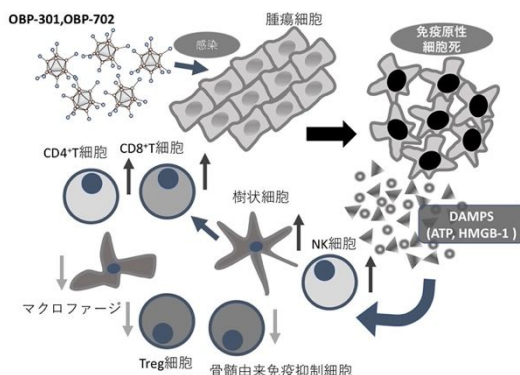
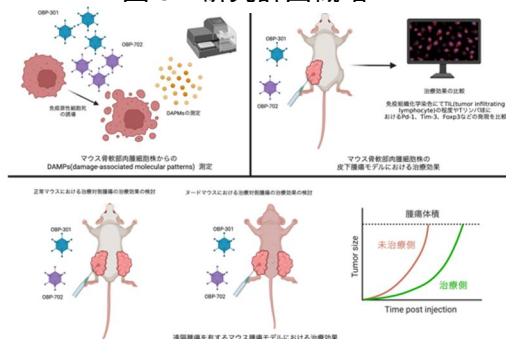


図2: 腫瘍融解ウイルス療法による免疫原性細胞死

3. 研究の方法 (図 3)

マウス骨軟部肉腫細胞株からの DAMPs (damage-associated molecular patterns) 測定
 マウス骨肉腫細胞株を使用し、OBP-301、OBP-702 投与時の DAMPs 発現量とピークを、専用測定キットを用いて測定する。
 マウス骨軟部肉腫細胞株の皮下腫瘍モデルにおける治療効果
 正常な免疫機能を有する C57BL/6 マウスの背部皮下に、マウス骨軟部肉腫細胞株を移植し、未治療群、OBP-301 群、OBP-702 群の 3 群に分け治療効果を検討する。治療後の腫瘍組織を摘出し、免疫組織化学染色にて TIL (tumor

図 3 研究計画概略



免疫組織化学染色にて TIL (tumor

infiltrating lymphocyte)の程度やTリンパ球におけるPd-1、Tim-3、Foxp3などの発現を比較し、抗腫瘍免疫の増強の有無を検討する。

遠隔腫瘍を有するマウス腫瘍モデルにおける治療効果
マウス骨軟部肉腫細胞株を用いて、遠隔腫瘍を有するマウス皮下移腫瘍モデルを作成し、OBP-301、OBP-702を局所投与し、未治療側腫瘍のアブスコパル効果(複数のがん病巣のうちの一つを治療すると、治療していない領域のがんも縮小する効果(Postow MA, 2012))を調べるために遠隔部分の治療効果を検討する。

4. 研究成果

第79回癌学会をはじめとする国内学会での発表を行った。

American Association for Cancer Research (AACR)での海外発表を予定していたがコロナウイルス蔓延の影響を加味して中止した。OBP-702は301と比べ非常に高い抗腫瘍効果を発揮する為、将来的な臨床での使用はOBP-702を中心となっていく可能性があり、またp53自体が免疫原性細胞死にかかわる事が知られていたが、実際に vivo

モデルで腫瘍免疫活性を示すことができた。in vitroにおいてOBP-702はOBP-301に比べてより強い細胞障害性を示すとともに、HMGB1やATPといったDAMPsの放出を増加させており、より強い免疫原性細胞死を誘導していることが示唆された(図4)。

また、マウス骨肉腫皮下腫瘍モデルにおいてもOBP-702投与群ではOBP-301投与群よりも強い抗腫瘍効果を示すとともに腫瘍内に多くのCD8陽性細胞の浸潤を認め、抗腫瘍免疫を活性化

させていることが示唆された(図5)。また、遠隔腫瘍作成骨肉腫皮下モデルに対して、片側局所治療を行ったところ正常マウスでは対側の未治療腫瘍にも腫瘍縮小効果がみられたが、ヌードマウスにおいてはこの効果が見られなかった(図6)ことからOBP-702の局所治療における免疫原性細胞死によって活性化されたCD8陽性細胞を中心とした免疫系による抗腫瘍効果が惹起されていたことが示唆される。これは、局所治療によって遠隔転移巣にも効果が見られるアブスコパル効果を示しており、局所治療であった腫瘍融解ウイルス製剤の原発巣と遠隔巣への同時治療への応用が期待される。腫瘍融解アデノウイルス感染に伴うがん抗原の放出や danger signal 放出による IFN-、IL-12の誘導(Endo Y, 2008)により腫瘍周囲環境の免疫細胞を賦活化することで遠隔転移を阻害し、また全身における免疫反応の活性化を介して転移部位における抗腫瘍効果が期待できる。

また、腫瘍免疫を賦活化するというこ

とは抗PD-1等の免疫チェックポイント阻害薬との併用療法等の応用の可能性も期待できる。近年注目されている免疫細胞を中心とした腫瘍周囲微小環境の変化も注目されており、骨肉腫においては免疫細胞の乏しい cold tumor が主体と考えられてきたが、腫瘍融解アデノウイルス製剤投与における cold tumor から hot tumor への転換することができるのであればますます治療応用の可能性、研究テーマ拡大の可能性を残すものであり非常に有意義な研

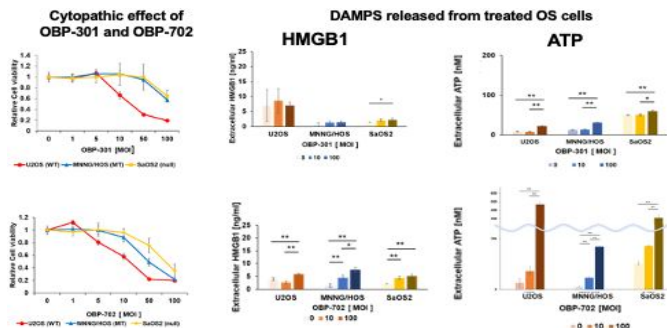


図4 OBP-301及びOBP-702の細胞障害性とDAMPs

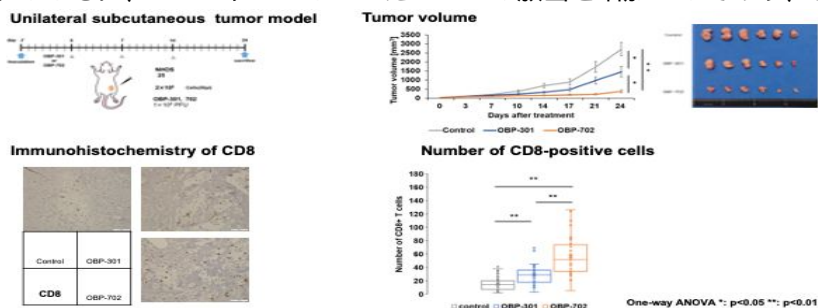


図5 OBP-301とOBP-702の肉腫皮下腫瘍モデルにおける治療効果と免疫細胞浸潤の比較

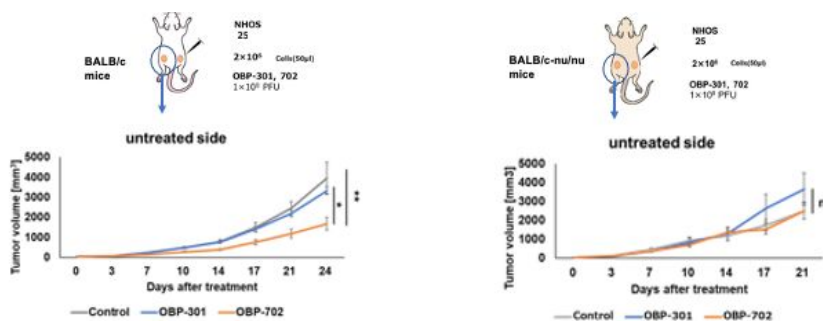


図6 皮下腫瘍遠隔腫瘍モデルにおける治療効果

究結果であった。今後も当研究室では腫瘍融解アデノウイルス製剤投与における免疫微小環境変化を中心に引き続き研究を行っていく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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 Hiroya Kondo
2. 発表標題 p53-armed oncolytic virotherapy enhances the antitumor efficacy both for local and distant site in osteosarcoma
3. 学会等名 the 79th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Koji Demiya
2. 発表標題 Combination immunotherapy with telomerase-specific oncolytic adenovirus for osteosarcoma
3. 学会等名 the 78th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koji Demiya
2. 発表標題 p53-armed oncolytic virotherapy enhances the antitumor efficacy both for local and distant site in osteosarcoma
3. 学会等名 2020 Annual Meeting of the Orthopaedic Research Society
4. 発表年 2020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
---------	---------