

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2008～2010

課題番号：20390354

研究課題名（和文）

肝転移腫瘍に対する腫瘍溶解性ウイルスの血管内投与法の開発

研究課題名（英文）

Intra venous injection of Oncolytic virus against liver metastasis

研究代表者

中尾 昭公 (NAKAO AKIMASA)

名古屋大学・医学系研究科・教授

研究者番号：70167542

研究成果の概要（和文）：

先に HSV に感染させた immunized マウスを使用して HSV 抗体陽性個体での腫瘍溶解性 HSV ウイルスの in vivo 抗腫瘍効果（生存率）について調査し、immunized マウスではリピオドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群では前者の方が優位に高い生存率を示した。この事からリピオドールエマルジョングループでは血液中の抗ヘルペス抗体から HSV ウイルスを守り感染力を維持し抗腫瘍効果を示し、結果として生存率の改善をもたらしたと考えられた。

研究成果の概要（英文）：

we encapsulated the oncolytic virus in liposomal emulsion body
Anti-HSV antibodies attenuated the infectiousness and cytotoxicity of hrR3, whereas hrR3/liposome complexes were not attenuated by these anti-HSV antibodies. Although the survival rate of non-immunized mice treated with hrR3 alone was similar to that of mice treated with the hrR3/liposome complexes, the survival rates of immunized mice treated with hrR3 alone were significantly reduced compared to mice treated with the hrR3/liposome complexes.
This systemic intravascular delivery of hrR3/liposome complexes in the presence of pre-existing neutralizing antibodies is effective to treat multiple liver metastases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2009 年度	3,400,000	1,020,000	4,420,000
2010 年度	4,000,000	1,200,000	5,200,000
年度			
年度			
総計	10,600,000	3,180,000	13,780,000

研究分野：消化器外科学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：癌、ウイルス、転移性肝癌、腫瘍溶解性ウイルス、HF10

1. 研究開始当初の背景

数々の抗腫瘍薬が開発され外科的な切除術が進歩を遂げている中で未だ癌のコントロ

ールは不良である。特に固形癌に有効な副作用の少ない抗腫瘍薬は殆ど存在しない。こうした難治癌疾患に対して患者さんに優しい

独創的な新規の抗腫瘍薬の開発が切望されている。腫瘍溶解性ウイルスを用いる遺伝子治療は、ウイルスが癌細胞に感染し増殖して内部から破壊するため従来の遺伝子治療よりも強力な治療効果が期待できる。また、最近では腫瘍特異的なリンパ球の誘導など、癌ワクチンすなわち全身療法としての効果も明らかにされつつある。

2. 研究の目的

当科は消化器外科臨床教室として肝転移した進行癌に接することが多く腫瘍溶解性ウイルスの肝転移腫瘍に対する血管内投与の必要性を強く感じていた。肝内に散在する腫瘍には今までの局所投与による方法に代わって新しい方法を用いた血管内投与による血流を介したウイルスデリバリーシステムの開発を目的とする。

3. 研究の方法

(1) *In vitro*において各種 cell line を使用してリポドールとのエマルジョンがウイルスの感染に与える影響について検討した。癌細胞に吸着させる事ができた。

(2) *In vivo*で control とリポドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群での血管内投与後の各種血液抗体に与える影響について検討した。

(3) *In vivo*で担癌マウスを用いて門脈注入したリポドールエマルジョンウイルスによる生存率の改善について検討した。

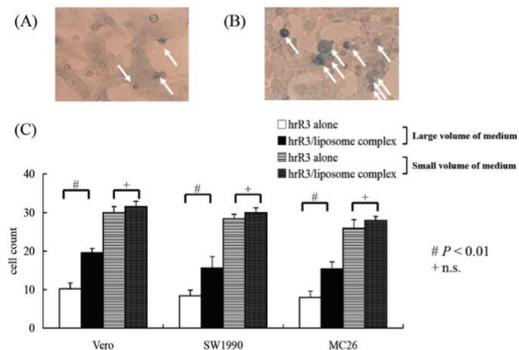
(4) 6人の成人ボランティア群とマウス群から採取した血液を基にHSV抗体陽性者と陰性者の血清中での腫瘍溶解性HSVウイルスの感染 Activity について調査した。

(5) マウスから採取した血液を基にHSV抗体陽性と陰性の血清中での腫瘍溶解性HSVウイルスの *in vitro* 抗腫瘍効果について3種類の腫瘍細胞 (Vero, Sw1991, MC26) で調査した。

(6) 先にHSVに感染させた immunized マウスを使用してHSV抗体陽性個体での腫瘍溶解性HSVウイルスの *in vivo* 抗腫瘍効果 (生存率) について調査した。

4. 研究成果

(1) *In vitro*において各種 cell line を使用してリポドールとのエマルジョンがウイルスの感染に与える影響について検討した。リポドールとのエマルジョンはMediumが過剰に豊富であっても有効にウイルスを腫瘍細胞に吸着させる事ができた。リポドールがウイルスの吸着に有効に働く事を示した。この結果は実際の血流の中での有効性の評価に繋がるものと考えられる。



(2) *In vivo*で control とリポドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群での血管内投与後の各種血液抗体に与える影響について検討した。ウイルスに対するIgGの上昇をリポドールエマルジョンウイルス群は抑制したがIgE, IgMでは有意な抑制は見られなかった。また、CD4/8比率の低下をリポドールエマルジョンウイルス群は抑制した。ウイルスが直接血液に触れるのをリポドールでコーティングする事によって生じた差異であると思われる。このことは将来、ウイルスの投与によって抗体を獲得した患者さんへの再投与における有効性を示した物と考える

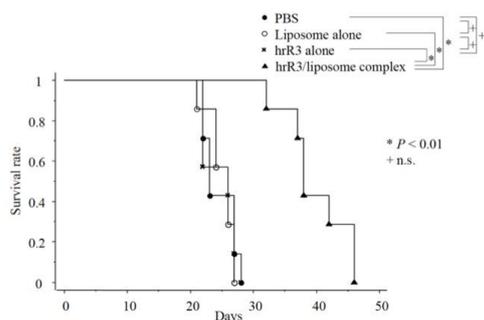
(3) *In vivo*で担癌マウスを用いて門脈注入したリポドールエマルジョンウイルスによる生存率の改善について検討した。ウイルスに対する抗体を持たない群ではウイルス単独群と同じ生存率の改善を示した。

(4) 6人の成人ボランティア群とマウス群から採取した血液を基にHSV抗体陽性者と陰性者の血清中での腫瘍溶解性HSVウイルスの感染 Activity について調査し、抗体陰性者ではリポドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群での差異はなかったが抗体陽性血清中ではリポドールエマルジョンウイルス群が優位に高い感染効率を示した。

(5) マウスから採取した血液を基にHSV抗体陽性と陰性の血清中での腫瘍溶解性HSVウイルスの *in vitro* 抗腫瘍効果について3種類の腫瘍細胞 (Vero, Sw1991, MC26) で調査し、抗体陰性ではリポドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群での差異はなかったが抗体陽性血清中ではリポドールエマルジョンウイルス群が優位に高い抗腫瘍効果を示した。

(6) 先にHSVに感染させた immunized マウスを使用してHSV抗体陽性個体での腫瘍溶解性HSVウイルスの *in vivo* 抗腫瘍効果 (生存率) について調査し、immunized マウスではリポドールエマルジョンウイルスとウイルス単独群ではリポドールエマルジョンウイ

ルス群が優位に高い生存率を示した。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

- ① Nakao A, Kasuya H, Sahin TT, Nomura N, Kanzaki A, Misawa M, Shirota T, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Shikano T, Nomoto S, Takeda S, Kodera Y, Nishiyama Y, A phase I dose-escalation clinical trial of intraoperative direct intratumoral injection of HF10 oncolytic virus in non-resectable patients with advanced pancreatic cancer, *Cancer Gen Ther*, 査読有, Vol.18, No.3, 2011, pp.167-175
- ② Shikano T, Kasuya H, Sahin TT, Nomura N, Kanzaki A, Misawa M, Nishikawa Y, Shirota T, Yamada S, Fujii T, Sugimoto H, Kanazumi N, Nomoto S, Takeda S, Nakao A, High therapeutic potential for systemic delivery of a liposome-conjugated herpes simplex virus, *Curr Cancer Drug Targets*, 査読有, Vol.11, No.1, 2010, pp.111-122
- ③ Nomura N, Kasuya H, Watanabe I, Shikano T, Shirota T, Misawa M, Sugimoto H, Kanazumi N, Nomoto S, Takeda S, Nakao A, Considerations for intravascular administration of oncolytic herpes virus for the treatment of multiple liver metastases, *Cancer Chemother Pharmacol*, 査読有, Vol.63, No.2, 2009, pp.321-330
- ④ Watanabe I, Kasuya H, Nomura N, Shikano T, Shirota T, Kanazumi N, Takeda S, Nomoto S, Sugimoto H, Nakao A, Effects of tumor selective replication-competent herpes viruses in combination with gemcitabine on pancreatic cancer, *Cancer Chemother Pharmacol*, 査読有, Vol.61 No.5, 2008, pp.875-882

[学会発表] (計 12 件)

- ① Kasuya H, Biological therapeutic HF10 oncolytic virus therapy, The Society of

Surgical Oncology the 64th Annual Cancer Symposium, 2011.3.2-5, San Antonio, USA

- ② 神崎章之、腫瘍特異的リンパ球に吸着した腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスの抗腫瘍効果の検討、第 48 回日本癌治療学会学術集会、2010 年 10 月 28 日、京都
- ③ Kasuya H, Novel therapeutic method of HF10 oncolytic virus therapy for advanced pancreatic cancer, Joint Meeting of the International Association of Pancreatology and the Japan Pancreas Society 2010, 2010.7.11, Fukuoka, Japan
- ④ 粕谷英樹、HF10 の軌跡と EUS 下投与を含めた今後の展望、第 110 回日本外科学会定期学術集会、2010 年 4 月 8 日、名古屋
- ⑤ Kasuya H, Translational study using HF10 oncolytic virus against pancreatic cancer, 40th Anniversary Joint Meeting of the American Pancreatic Association and Japan Pancreas Society, 2009.11.7, Honolulu, Hawaii
- ⑥ 野村尚弘、HF10 の臨床成績について、第 68 回日本癌学会学術総会、2009 年 10 月 2 日、横浜
- ⑦ Kasuya H, New method using oncolytic virus for breast and pancreatic cancer, 19th World Congress of the international Association of Surgeons, Gastroenterologists, and Oncologists, 2009.9.26, Beijing, China
- ⑧ 粕谷英樹、HF10 の臨床成績と腫瘍内のウイルスの長期存在について、第 40 回日本膵臓学会大会、2009 年 7 月 31 日、東京
- ⑨ 粕谷英樹、腫瘍溶解性ウイルス HF10 の臨床成績と今後の展開、第 109 回日本外科学会定期学術集会、2009 年 4 月 2 日、福岡
- ⑩ 粕谷英樹、腫瘍増殖型ヘルペスウイルス HF10 の臨床応用に向けた検討、第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月 29 日、名古屋
- ⑪ 城田高、腫瘍溶解性ウイルスと抗腫瘍細胞免疫の誘導効果について、第 63 回日本消化器外科学会総会、2008 年 7 月 16 日、札幌
- ⑫ 粕谷英樹、US3 locus 遺伝子欠損腫瘍溶解性 herpes virus の癌診断と治療への応用、第 63 回日本消化器外科学会総会、2008 年 7 月 17 日、札幌

[図書] (計 1 件)

- ① 粕谷英樹、他、飯田橋パピルス、分子細胞治療フロンティア、2010、7(pp.39-45)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中尾 昭公 (NAKAO AKIMASA)

名古屋大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：701647542

(2) 研究分担者

粕谷 英樹 (KASUYA HIDEKI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・准教授
研究者番号：00402636

竹田 伸 (TAKEDA SHIN)
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：20314015

杉本 博行 (SUGIMOTO HIROYUKI)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：20437007

野本 周嗣 (NOMOTO SHUJI)
名古屋大学・医学部附属病院・助教
研究者番号：40300967

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：