

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21592033

研究課題名（和文） 癌特異的プロモータを利用した抗癌ウイルス療法の構築～腎癌、前立腺癌において

研究課題名（英文） Novel oncolytic HSV-1 for treatment of slowly-growing tumors such as prostate carcinoma or renal cell carcinoma

研究代表者

福原 浩 (FUKUHARA HIROSHI)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号 20292948

研究成果の概要（和文）：

本研究では、HSV-1 を用いたウイルス療法が各種癌の新治療法として近い将来確立することを視野に入れ、プロモータ制御型の癌特異的な増殖型 HSV-1 ベクターの開発を目的として実験を進めた。既に、前立腺組織特異プロモータとして PSA や PSMA、オステオカルシンを使用したウイルスや、癌特異的な hTERT を使用したウイルス、negative control としての empty ウイルスなどの数種類のウイルスの作製に成功した。さらに、これらの新規ウイルスが前立腺癌に有効であることを動物実験にて確認した。

研究成果の概要（英文）：

We constructed novel oncolytic HSV-1 using G47 $\Delta$ 's structure, with mutations in the *ICP6*, *g34.5*, and *a47* genes, as the basic backbone. The new virus, T-hTERT, contains a functioning *ICP6* gene (encoding the large subunit of viral RR) controlled by tumor specific promoter. The *in vitro* replication capability of T-hTERT was higher than the control virus T-01, with an *ICP6* deletion, in some and comparable to T-01 in other cell lines tested. In athymic mice bearing subcutaneous tumors, intraneoplastic injections with T-hTERT demonstrated higher efficacy than T-01 for renal cell carcinoma or prostate cancer.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学、泌尿器科学

キーワード：前立腺癌、腎癌、ウイルス療法、遺伝子治療

## 1. 研究開始当初の背景

近年、ウイルスゲノムを遺伝子工学的に改変して、癌細胞でのみ増殖して、その複製に伴う直接的な殺細胞作用を癌治療に応用するウイルス療法の試みがなされてきた。これ

は、遺伝子操作を加えたウイルスを癌細胞に直接投与することによって、癌を死滅させようとする治療法である。以前より有効性は確認されていたが、正常組織に対する安全性の面で研究が進捗しなかった治療法でもある。

しかし、遺伝子組換えヘルペスウイルス (HSV-1) が癌細胞特異的に複製して、癌細胞を死滅させることを応用する概念が 1991 年に提唱されて以来、その開発研究は飛躍的に進歩してきた。現在、複数の増殖型 HSV-1 が悪性脳腫瘍、転移性肝癌、黒色腫、転移性乳癌など様々な癌を対象に欧米の臨床試験で検証されている。増殖型 HSV-1 を用いた癌のウイルス療法は、癌に共通した細胞生物学的機構を利用しており遺伝学的背景にかかわらず適用できること、手術、放射線、化学療法といった従来の治療法と併用が可能で、骨髄に影響せず反復投与が可能であること、免疫療法との組み合わせにより相乗効果が期待できること、HSV-1 の細胞間伝搬が血中抗 HSV-1 抗体に影響されないこと、抗ウイルス薬が存在すること、均一な品質の大量生産も可能であることなど実用面で優れており、新しい有効な癌治療法として期待されている。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、癌特異的に目的遺伝子を発現するプロモータを利用して、安全性を担保しながら癌細胞でのみ野生株と同等の抗腫瘍効果を発揮する、究極の抗癌ウイルスを作製することにある。抗癌ウイルス治療に用いられるヘルペスウイルス(HSV-1)は、癌特異性を持たせるためにウイルス遺伝子に遺伝子操作が加えられているが、遺伝子操作されていない野生株と比較すると弱毒化してしまっている。そのため、*ICP6* 遺伝子で減弱したウイルス複製能を癌細胞に限って回復させて野生株と同等の抗腫瘍効果を発揮させる一方、正常細胞では増殖しない抗癌ウイルスの作製を目指すことが本研究の目的である。

## 3. 研究の方法

今回の研究では、癌特異的に目的遺伝子を発現する hTERT (テロメラーゼ逆転写酵素プロモータ) プロモータを利用して T-hTERT ウイルスをまず作製する。hTERT プロモータは癌化と不死化に関わるテロメラーゼ逆転写酵素を利用して、癌細胞のみで目的遺伝子が発現するよう作製されたプロモータカセットである。コントロールの T-01 (プロモータなし) ウイルスと比較して、主に腎癌細胞にて腎癌に対する抗腫瘍効果の評価を行う。次に、対象を前立腺癌に広げて抗腫瘍効果の判定を行う。

## 4. 研究成果

これまでの研究にて、癌/組織特異的な「プロモータ制御型ウイルス」を作製する T-BAC システムが完成していた。今回の研究で平成

21年度に、腫瘍特異的に抗腫瘍効果を示す T-hTERT を作製した。平成22年度では、Southern blot法にて目的の遺伝子が挿入されていることを確認し、さらに、Western blot で、腫瘍細胞に感染した T-hTERT が ICP6 遺伝子を発現することを確認した。In vitro で、T-hTERT は対照ウイルス T-01 に比べて有意に高いウイルス複製能を示した。平成23年度では、in vivo でのマウス皮下腫瘍に対する治療効果等の評価を確認した。

## 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 17 件)

1. Miyazaki H, Kume H, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Homma Y. Leukopenia as a risk factor for osteonecrosis of the jaw in metastatic prostate cancer receiving zoledronic acid and docetaxel. *BJU Int.* 2012, in press.
2. Nakamura M, Fujimura T, Nagata M, Hosoda C, Suzuki M, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Kume H, Igawa Y, Homma Y. Association between lower urinary tract symptoms and sexual dysfunction assessed using the core lower urinary tract symptom score and International index of erectile function-5 questionnaires. *Aging Male.* 2012, in press.
3. Sugihara T, Yasunaga H, Horiguchi H, Nishimatsu H, Fukuhara H, Enomoto Y, Kume H, Ohe K, Matsuda S, Homma Y. Management trends, angioembolization performance and multiorgan injury indicators of renal trauma from Japanese administrative claims database. *Int J Urol.* 2012, in press.
4. Fujimura T, Kume H, Nishimatsu H, Sugihara T, Nomiya A, Tsurumaki Y,

- Miyazaki H, Suzuki M, Fukuhara H, Enomoto Y, Homma Y. Assessment of lower urinary tract symptoms in men by international prostate symptom score and core lower urinary tract symptom score. *BJU Int* 2011, in press.
5. Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Ishikawa A, Kume H, Homma Y, Kitamura T.  $17\beta$ -Estradiol-Mediated Elevation of Peripheral White Blood Cell Count During Estramustine Phosphate Therapy for Prostate Cancer. *Int J Endocrinol Metab.* 9, 347-351, 2011
6. Fujimura T, Kume H, Tsurumaki Y, Yoshimura Y, Hosoda C, Suzuki M, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Homma Y. Core lower urinary tract symptom score (CLSS) for the assessment of female lower urinary tract symptoms: a comparative study. *Int J Urol.* 18, 778-84, 2011.
7. Suzuki M, Liu M, Kurosaki T, Suzuki M, Arai T, Sawabe M, Kasuya Y, Kato M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Ishikawa A, Kume H, Homma Y, Kitamura T. Association of rs6983561 Polymorphism at 8q24 With Prostate Cancer Mortality in a Japanese Population. *Clin Genitourin Cancer.* 9, 46-52, 2011.
8. Nagata M, Sakurai-Yageta M, Yamada D, Goto A, Ito A, Fukuhara H, Kume H, Morikawa T, Fukayama M, Homma Y, Murakami Y. Aberrations of a cell adhesion molecule CADM4 in renal clear cell carcinoma. *Int J Cancer* 130, 1329-1337, 2011.
9. Kume H, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Ishikawa A, Homma Y. Docetaxel as a vital option for corticosteroid-refractory prostate cancer. *Int Urol Nephrol.* 185, 1611-1614, 2011.
10. Kume H, Kakutani S, Yamada Y, Shinohara M, Tominaga T, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Homma Y. Prognostic Factors for Renal Cell Carcinoma With Bone Metastasis: Who Are the Long-Term Survivors? *J Urol.* 185, 1611-1614, 2011.
11. Fukuhara H, Nishimatsu H, Suzuki M, Fujimura T, Enomoto Y, Ishikawa A, Kume H, Homma Y. Lower incidence of inguinal hernia after radical prostatectomy using open gasless endoscopic single-site surgery. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 14, 162-167, 2011.
12. Fukuhara H, Kume H, Suzuki M, Fujimura T, Enomoto Y, Nishimatsu H, Ishikawa A, Homma Y. Maximum tumor diameter: a simple independent predictor for biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 13, 244-247, 2010.
13. Kume H, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Enomoto Y, Nishimatsu H, Homma Y. Distant metastasis of renal cell carcinoma with a diameter of 3 cm or less-which is aggressive cancer? *J Urol,* 184, 64-68, 2010.
14. Kitamura T, Suzuki M, Nishimatsu H, Kurosaki T, Enomoto Y, Fukuhara H, Kume H, Takeuchi T, Miao L, Jiangang H, Xiaoqiang L. Final report on low-dose estramustine phosphate (EMP) monotherapy and very low-dose EMP

therapy combined with LH-RH agonist for previously untreated advanced prostate cancer. Aktuelle Urol, 41, S34-40, 2010.

15. Hiraike H, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, Koyama S, Miyamoto Y, Sone K, Tanikawa M, Tsuruga T, Nagasaka K, Matsumoto Y, Oda K, Shoji K, Fukuhara H, Saji S, Nakagawa K, Kato S, Yano T, Taketani Y. Identification of DBC1 as a transcriptional repressor for BRCA1. Br J Cancer, 102, 1061-1064, 2010.
16. Koyama S, Wada-Hiraike O, Nakagawa S, Tanikawa M, Hiraike H, Miyamoto Y, Sone K, Oda K, Fukuhara H, Nakagawa K, Kato S, Yano T, Taketani Y. Repression of estrogen receptor beta function by putative tumor suppressor DBC1. Biochem Biophys Res Commun, 392, 357-362, 2010.
17. Fukuhara H, Homma Y and Todo T. Oncolytic virus therapy for prostate cancer. Int J Urol, 17, 20-30, 2010.

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕  
なし

6. 研究組織  
福原 浩(FUKUHARA HIROSHI)  
東京大学、医学部附属病院、講師  
研究者番号：20292948

(2) 研究分担者  
野宮 明(NOMIYA AKIRA)  
東京大学、医学部附属病院、助教  
研究者番号：30372379

(3) 連携研究者  
なし

