

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11日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791065

研究課題名（和文） 血管肉腫に対するウイルスベクターを用いた新治療の試み

研究課題名（英文） Inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene exert anti-tumor effects on murine angiosarcoma

研究代表者

西澤 綾 (NISHIZAWA AYA)

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・助教

研究者番号：30431456

研究成果の概要（和文）：

皮膚血管肉腫は致死率の高い予後不良な悪性腫瘍である。

近年、不活化センダイウイルスである HVJ-E エンベローブベクター（HVJ-E）はそれ自体が抗腫瘍効果を示すことが示されている。

そこで、本研究はHVJ-EおよびIL-2遺伝子導入、スニチニブリンゴ酸塩による血管肉腫モデルマウスに対する治療効果の評価を目的として行った。

その結果、HVJ-Eは血管肉腫の増大を有意に抑制した。

また、IL-2を含むHVJ-EはHVJ-E単独投与に比べ、有意に血管肉腫の増大を抑制した。

HVJ-Eによる抗腫瘍効果はCD8陽性細胞、NK細胞の増加、制御性T細胞の減少と関連があった。

スニチニブリンゴ酸塩は *in vitro* または *in vivo*においてマウス血管肉腫細胞株ISOS-1の増殖を抑制した。

HVJ-Eとスニチニブリンゴ酸塩の併用によりHVJ-E単独に比べ優位に血管肉腫の増大を抑制した。

研究成果の概要（英文）：

Cutaneous angiosarcoma is a malignant skin tumor with a high mortality rate despite the currently available therapeutic protocols.

Inactivated, replication-defective Sendai virus particles (HVJ-E) have been shown to have a powerful anti-tumor effect.

We aimed to establish a novel therapeutic tool for angiosarcoma with HVJ-E, IL-2 gene, and/or sunitinib.

HVJ-E significantly inhibited tumor growth of angiosarcoma *in vivo*.

HVJ-E-containing murine IL-2 gene resulted in an even more significant inhibition of tumor growth than HVJ-E alone.

Anti-tumor effects of HVJ-E were associated with an increase of CD8 (+) cells and NK cells, and a decrease of Tregs.

Sunitinib inhibits cell growth of ISOS-1 cells *in vitro* and *in vivo*.

The combination of the HVJ-E and Sunitinib resulted in an even more significant inhibition of tumor growth than HVJ-E alone.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1200000	360000	1560000
2010年度	900000	270000	1170000
2011年度	1100000	330000	1430000
年度			
年度			
総計	3200000	960000	4160000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科臨床医学 皮膚科学

キーワード：①遺伝子治療②免疫療法③血管肉腫④HVJ-E⑤スニチニブリンゴ酸塩⑥IL-2

① 研究開始当初の背景

血管肉腫 (angiosarcoma : AS) (狭義の血管肉腫) は転移しやすい予後不良な疾患である。根治が望める治療は確立されていなく、いまだ満足できる治療効果が得られていない。そこでさまざまな悪性腫瘍に対する新しい治療法として、臨床応用がなされつつある遺伝子治療に注目した。HVJ-E は非ウイルスベクターであり、センダイウイルスを紫外線照射などによって、完全に不活性化したものである。HVJ-E の特徴として、1) 遺伝子導入効率が非常に高い、2) 様々な種類の細胞に導入可能、3) *in vivo* で投与しても生体に感染せず安全、4) 多種類の遺伝子を同時に細胞に導入できる、5) DNA 以外にも RNA, タンパク, 薬剤なども封入可能、などが挙げられる。さらにごく最近、HVJ-E はそれ自身単独で腫瘍特異的抗腫瘍免疫反応を引き起こすことが動物実験で明らかになっている。そこで今回は HVJ-E エンベロープベクター (HVJ-E) を用い、実験動物に作成した皮下 AS 腫瘍局所に、様々な抗腫瘍エフェクターを併用する新規遺伝子治療研究に着手することにした。

2. 研究の目的

血管肉腫に対する新規治療法の開発

3. 研究の方法

I. 抗腫瘍効果についての検討

HVJ-E、HVJ-E に IL-2 遺伝子を封入したもの (HVJ-E/IL-2)、スニチニブリンゴ酸塩、および HVJ-E とスニチニブリンゴ酸塩との併用での効果を観察。その際の免疫学的な変化を免疫組織学的またはフローサイトメトリー等で解析。

II. IL-2 の遺伝子導入.

II-1. IL-2 遺伝子を HVJ-E に導入する.

II-2. 作成した IL-2 導入 HVJ-E を BALB/c マウス背部皮下に作成した ISOS-1 AS 腫瘍に局注し、抗腫瘍効果の増強について観察する。またその際の腫瘍免疫機構の変化を解析する。

III. BALB/c マウス背部皮下に作成した ISOS-1 AS 腫瘍に IL-2 の遺伝子を封入した HVJ-E を投与し、抗腫瘍効果の増強について観察する。

腫瘍径の比較や生存曲線などを検討する。

IV. BALB/c マウス背部皮下に作成した ISOS-1 AS 腫瘍に HVJ-E とスニチニブリンゴ酸塩を併用投与し、抗腫瘍効果の増強について観察する。

腫瘍径の比較や生存曲線などを検討する。

V. HVJ-E 投与および併用治療による抗腫瘍効果増強のメカニズムを免疫学的に解析する。

T細胞の細胞障害活性、制御性T細胞の増減、腫瘍浸潤細胞の種類とその変化、細胞の表面マーカー変化などをフローサイトメトリー、リアルタイムPCRなどを用いて解析する。

4. 研究成果

1) マウス血管肉腫細胞株 ISOS-I 細胞に対し、スニチニブリンゴ酸塩は *in vitro* において濃度依存的に増殖抑制効果を示した。

2) BALB/c マウスに作成した AS 腫瘍を用いて *in vivo* におけるスニチニブリンゴ酸塩、HVJ-E、HVJ-E に IL-2 遺伝子を封入して投与することによる抗腫瘍効果を検討。また、それらの併用治療を試みた。

- ① HVJ-E 単独投与により抗腫瘍効果が得られた。
- ② スニチニブリンゴ酸塩単独投与において容量依存的に抗腫瘍効果が得られた。
- ③ HVJ-E とスニチニブリンゴ酸塩の併用で単独投与に比べ抗腫瘍効果が増強した。
- ④ HVJ-E に IL-2 遺伝子を封入して投与することにより HVJ-E 単独投与より抗腫瘍効果が増強した。
- 3) HVJ-E 投与マウスにおいては腫瘍浸潤リンパ球において CD8 陽性細胞と NK 細胞の割合が増加し、所属リンパ節の制御性 T 細胞の割合が低下を示した。
- 以上より HVJ-E による抗腫瘍効果は免疫を介した作用であると推測された。

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. 西澤 綾、佐藤貴浩、横関博雄
歯性根尖病巣が原因と考えられた亜急性痒疹
皮膚病診療 33 巻 12 号 1219-1222, 2011
2. 西澤 綾 片岡いづみ 佐藤貴浩
歯科金属アレルギーが原因と考えられた異汗性湿疹
Visual Dermatology 10 巻 11 号 1170-1171, 2011
3. 西澤 綾 佐藤 昌 佐藤貴浩
歯科金属除去にて軽快した口腔粘膜扁平苔癬
Visual Dermatology 10 巻 11 号 1174-1175, 2011
4. 西澤 綾
口腔粘膜の扁平苔癬
Monthly Book Derma. 186 巻, 27-33, 2011

[学会発表] (計 4 件)

- ① Aya Nishizawa, Takahiro Satoh, Hiroo Yokozeki
Hyperkeratotic type of palmoplantar eczematous reaction: a variant of dyshidrotic eczema?
The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigateve Dermatology. 2011.12.9

- ② Yuki Takehara, Takahiro Satoh, Aya Nishizawa, Mikio Masuzawa, Hiroo Yokozeki
Inactivated Sendai virus particles with an IL-2 gene exert anti-tumor effects on murine angiosarcoma
The 36th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigateve Dermatology. 2011.12.9
- ③ 西澤 綾、佐藤貴浩、横関博雄
扁平苔癬 115 例における 金属アレルギーの関与に関する検討
第 23 回日本アレルギー学会春季臨床大会
2011.5.14-15
- ④ 西澤 綾、篠塚直子、田中智子、宮崎安洋、佐藤貴浩、横関博雄
オメプラールによる nonpigmenting fixed drug eruption
第 41 回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会 2011.7.16-17
[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]

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者
(西澤 綾)

研究者番号：30431456

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者
()

研究者番号：