

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011 ～ 2012

課題番号：23791268

研究課題名（和文） 不活化センダイウイルス粒子を用いた悪性黒色腫治療における抗腫瘍免疫基盤の確立

研究課題名（英文） Establishment in evaluating antitumor immunity of inactivated HVJ-E to malignant melanoma

研究代表者

種村 篤（TANEMURA ATSUSHI）

大阪大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：50457016

研究成果の概要（和文）：不活化センダイウイルス粒子（HVJ-E）のヒト悪性黒色腫に対する免疫応答を液性および細胞性免疫の両面より検討した。結果、単一抗原に対する新規自己抗体の出現を同定し、担悪性黒色腫マウスでも再現した。また、HVJ-E を投与されたヒト腫瘍組織の内とくに縮小したもので CD4/CD8 T 細胞、CD11c 陽性樹状細胞の豊富な浸潤を確認すると同時に、末梢血における NK 細胞活性・IFN- γ の著明な上昇がみられ、抗腫瘍免疫の包括的な活性化が明らかになった。

研究成果の概要（英文）：We evaluated the inducible humoral and cellular immunity of inactivated HVJ-E in the patients with advanced malignant melanoma. As results, we detected a novel and specific auto-antibody which was upregulated with HVJ-E administration in human as well as in melanoma cells bearing mice. CD4⁺ / CD8⁺ T cells and CD11c⁺ dendritic cells robustly infiltrated particularly into the shrinking melanoma tissues, indicating that HVJ-E could augment the comprehensive anti-tumor immunity in malignant melanoma.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：Hemagglutinating Virus of Japan-Envelope、悪性黒色腫、抗腫瘍免疫

1. 研究開始当初の背景

2007年に大阪大学の黒岡・金田らは、パラミクソウイルス科パラミクソウイルス属のウイルスで、別名“センダイウイルス”とも呼ばれているHVJ (Hemagglutinating virus of Japan)を紫外線照射で不活化した粒子が強い抗腫瘍免疫を誘導出来るとの報告に端を発する。その後の動物モデルでの研究で、これまで明らかにされている抗腫瘍作用機序として、①腫瘍細胞内において不活化センダイウイルスがRNA受容体であるRIG-Iに認識されインターフェロン(IFN)の産生と、ミトコンドリア径路を介する細胞死を引き起こす事(=直接的な殺傷効果)、②不活化センダイウイルスが抗腫瘍免疫活性の鍵となる樹状細胞の分化・成熟を誘導することでMHC class I, IIによる癌抗原提示を促進し、自然免疫(NK細胞)・獲得免疫(細胞障害性T細胞による癌特異的免疫)を活性化すること(=癌免疫の活性化)、③不活化センダイウイルスが樹状細胞からのIL-6の産生を強く促し、それを介して免疫制御として働く制御性T細胞の活性を抑制すること(=癌免疫の長期維持)作用が明らかにされた。そこで、これらのHVJ-Eによる複合的な対腫瘍細胞作用を、ヒト悪性黒色腫症例への投与により誘導される免疫現象を検討する。

2. 研究の目的

進行性悪性黒色腫症例における全身的・局所的な不活化センダイウイルス粒子の抗腫瘍免疫誘導能を網羅的・経時的に評価したい。次に、前臨床研究で確認された不活化センダイウイルスの主要な免疫誘導能、特に腫瘍内での細胞性免疫活性化作用をヒトにおいて検証する。これら複合的・網羅的な免疫応答を解析することにより、不活化センダイウイルスに対する生体反応の科学的な検証を行うと同時に、癌免疫の指標となる新規のサロゲートマーカーを併せて探索したいと考える。

3. 研究の方法

新しい網羅的自己血清反応アレイシステム(Seromics)を用い、HVJ-E投与後に誘導される抗体を同定しELISAで定量的に検証する。同定された新タンパクの腫瘍組織での発現をリアルタイムPCR法、免疫染色法などで確認する。さらに、HVJ-E投与後上昇する末梢血中サイトカインを網羅的に解析し、HVJ-E投与腫瘍内に浸潤する様々な免疫担当細胞および細胞死を免疫染色法により検討する。

4. 研究成果

当該研究を行うため、並行して進めていた臨床研究施行6名の悪性黒色腫症例より組織・末梢血検体を採取完了した。初年度の不活化センダイウイルス (HVJ-E) 投与により誘導される網羅的抗体反応のアレイ解析により、全例で共通する新規抗原に対する自己抗体の検出に成功した。なお、同タンパクが HVJ-E 構成タンパクと交叉しないことをホモロジー解析により確認している。我々は EILSA プレートを作成し、健常人・担癌患者および HVJ-E 投与した症例から時系列的に採取した血清を用いて抗体価を測定したところ、健常人および担癌患者に比べ有意に HVJ-E 投与症例において上昇がみられ、さらに経時的に産生増加していた。次に、このタンパクの発現解析を行うため、まず正常細胞タンパクパネルを用いた発現解析を行ったところ、特に精巢で強く発現していることが見いだした。一方、メラノーマを含めた数種類のがん細胞株ではほぼ発現していないにも関わらず、HVJ-E 刺激により発現が誘導され、担メラノーマ細胞株マウスの腫瘍組織での発現も HVJ-E 投与後上昇しており、新規の HVJ-E 特異的免疫誘導の手がかりとなる情報を得た。一方、HVJ-E による抗腫瘍免疫誘導に関しては、特に血中 IFN-gamma・IL-6 値の上昇、NK 細胞活性の誘導が顕著であった。末梢血における免疫担当細胞分画には影響がなかったものの、HVJ-E 投与局所では CD4/8 T 細胞および CD68 陽性マクロファージが密に浸潤していることが担癌ヒト組織に於いて初めて確認された。

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)

[学会発表] (計 2 件)

- 1) Atsushi Tanemura: A Clinical Study Using the Hemagglutinating Virus of Japan-Envelope on Patients with Progressive Malignant Melanoma: 8th World Congress of Melanoma: July 17-20th, 2013: Hamburg in Germany
- 2) 種村 篤: 進行性悪性黒色腫患者に対するヒトセンダイウイルスベクター (HVJ-E) を用いた臨床研究: 第 29 回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会: 2013 年 8 月 9 日—10 日

[その他]

ホームページ等

<http://derma.med.osaka-u.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

種村 篤 (TANEMURA ATSUSHI)

大阪大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：50457016

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：