

全身投与可能ながん標的化改変ヘルペスウイルスによる 転移性悪性腫瘍の治療法開発

所属： 東京大学 医科学研究所 がん生体分子治療社会連携研究部門

助成対象者： 内田宏昭

共同研究者： 田原秀晃

概要

がん細胞だけに特異的に侵入し、静脈内投与可能な標的化腫瘍溶解性ウイルス療法が開発できれば、原発巣のみならず全身の転移巣にも有効な治療法となりえる。私たちは、単純ヘルペスウイルス（HSV）にがん細胞表面抗原を認識する単鎖抗体を組み込むことにより、標的細胞のみに侵入可能な標的化 HSV の構築に独自に成功した。この標的化 HSV は、現在臨床開発が進められているウイルス複製の段階でがん選択性を発揮する HSV に比して、より静脈内投与に適していると考えられる。

abstract

The route of administration of oncolytic herpes simplex virus (HSV) in the majority of clinical trials to date has been direct injection into the tumor. This appears to be one of the factors that may limit the therapeutic potential of oncolytic HSV as a single agent against systemically metastatic tumors. We have successfully established an HSV platform fully retargeted to tumor-associated antigens that enable restriction of virus infection at the stage of entry. This achievement may prove to be a major breakthrough that

facilitates treatment of metastatic tumors via systemic injection of oncolytic HSV.

研究内容

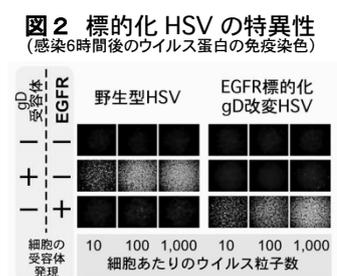
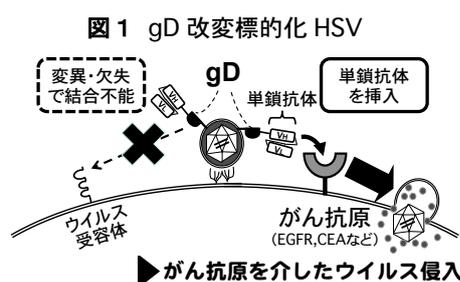
(1) 背景

悪性腫瘍の新規治療法として単純ヘルペスウイルス (HSV) を用いた腫瘍溶解性ウイルス療法が有望視され、本邦を含め広く臨床試験が進められてきた。2015 年、Amgen 社が開発した遺伝子組換え HSV 製剤 T-VEC (talimogene laherparepvec) が欧米で初めて医薬品として承認されたことに伴い、本研究分野はさらに大きな期待を集めている。しかしながら、今日までの臨床試験で用いられてきた腫瘍溶解性ウイルスは、がん細胞のみならず正常細胞にも一旦は侵入してしまうという問題を抱えている。このため、侵入してしまった正常細胞の傷害を避けるためにウイルスの増殖能を弱めざるを得ず、これが腫瘍溶解能の低下にもつながりうるというジレンマが存在した。加えて、溶解に必要なウイルス量を腫瘍局所で確保するためにはウイルスを腫瘍内に直接投与せざるを得ず、これが遠隔転移を有する進行がんの治療では大きな障壁となってきた。これに対し、がん細胞だけにしか侵入できない理想的な標的化ウイルスが実用化されれば、ウイルスの増殖能を弱めることなく本来の腫瘍溶解能を最大限に活用した治療戦略が可能となることに加え、これを静脈内投与することにより全身性の転移を来したがん症例を治療することも可能となりうる。

(2) 目的

私たちは、HSV のがん標的化改変に独自に成功した¹⁻⁴。すなわち、HSV の細胞への侵入を担うエンベロープ糖タンパク質 gD を本来の受容体に結合不能とした上で、これに epidermal growth factor receptor (EGFR)・carcinoembryonic antigen (CEA)・epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) など様々な腫瘍関連抗原に

対する単鎖抗体 (scFv) を挿入する (図 1) ことにより、標的細胞のみに効率良く侵入する標的化 HSV の構築に成功した (図 2)。



ウイルスの侵入段階を制御した本標的化 HSV は、現在臨床開発が進行中のウイルス複製の段階でがん選択性を発揮するタイプの HSV と比べ、より静脈内投与に適していると考えられる。そこで本研究では、私たちの標的化 HSV の静脈内投与薬としての性能を評価することを目的とした。

(3) 結果

免疫不全マウスの皮下にヒト悪性神経膠腫細胞株 U87 を移植した。腫瘍が認められた段階で、野生型 HSV あるいは EGFR 標的化改変 HSV を尾静脈に投与した。投与から 2 日間経過した時点で、腫瘍および脳、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓などの臓器を摘出した。これらの組織から DNA を抽出し、各検体に含まれる HSV ゲノムのコピー数を定量的 PCR により測定した。その結果、野生型 HSV においては、腫瘍に含まれる HSV ゲノムのコピー数は他の各臓器と同等あるいはそれ以下であった。一方、EGFR 標的化 HSV においては、腫瘍に含まれる HSV ゲノムのコピー数は他の各臓器の 100-1,000 倍であり、著明な腫瘍への集積を示した。

さらに、上記と同様に、免疫不全マウスの U87 皮下移植モデルにおいて、EGFR 標的化 HSV の尾静脈投与を行った後に腫瘍径を継時的に観察した。その結果、腫瘍の退縮を示すマウスが認められた。

(4) 今後

私たちの標的化改変 HSV を静脈内投与すると腫瘍に強く集積し、強力な抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなった。今後は、標的化 HSV の静脈内投与後の腫瘍への集積効率をさらに高めるための方法、腫瘍へ到達した標的化 HSV による抗腫瘍効果をさらに高めるための方法、標的化 HSV による治療の安全性をさらに高めるための方法を開発してゆく。

(5) 謝辞

本研究は、住友電工グループ社会貢献基金学術・研究助成を受けることにより遂行することができました。深く御礼申し上げます。

引用文献

1. **Uchida H**, Marzulli M, Nakano K, Goins WF, Chan J, Hong CS, Mazzacurati L, Yoo JY, Haseley A, Nakashima H, Baek H, Kwon H, Kumagai I, Kuroki M, Kaur B, Chiocca EA, Grandi P, Cohen JB, Glorioso JC. (2013) Effective treatment

of an orthotopic xenograft model of human glioblastoma using an EGFR-retargeted oncolytic herpes simplex virus. *Molecular Therapy*. 21:561-569.

2. Mazzacurati L, Marzulli M, Reinhart B, Miyagawa Y, Uchida H, Goins WF, Li A, Kaur B, Caligiuri M, Cripe T, Chiocca EA, Amankulor N, Cohen JB, Glorioso JC, Grandi P. (2015) Use of miRNA response sequences to block off-target replication and increase the safety of an unattenuated, glioblastoma-targeted oncolytic HSV. *Molecular Therapy*. 23:99-107.
3. Shibata T, Uchida H*, Shiroyama T, Okubo Y, Suzuki T, Ikeda H, Yamaguchi M, Miyagawa Y, Fukuhara T, Cohen JB, Glorioso JC, Watabe T, Hamada H, Tahara H. (2016) Development of an oncolytic HSV vector fully retargeted specifically to cellular EpCAM for virus entry and cell-to-cell spread. *Gene Therapy*. 23:479-488. ***Corresponding author.**
4. Okubo Y, Uchida H*, Wakata A, Suzuki T, Shibata T, Ikeda H, Yamaguchi M, Cohen JB, Glorioso JC, Tagaya M, Hamada H, Tahara H. (2016) Syncytial mutations do not impair the specificity of entry and spread of a glycoprotein D receptor-retargeted herpes simplex virus. *Journal of Virology*. 90:11096-11105. ***Corresponding author.**

本助成に関わる成果物

[口頭発表]

1. 内田宏昭 がん細胞表面抗原のみを介して感染する標的化改変ヘルペスウイルスを用いた腫瘍溶解性ウイルス療法の開発 大阪大学蛋白質研究所セミナー 次世代抗体の現状と今後 ～基礎研究から医薬品開発まで～ 2018年2月 東京