

## がん特異的蛍光発現ウイルス製剤による診断研究に関する研究

- 抗癌剤併用ウイルス療法の前臨床研究 -

研究分担者 藤原 俊義 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器外科学 教授

### 研究要旨

高齢者や併存疾患が多い局所進行食道癌に対する標準治療は未だ確立されておらず、何らかの新規治療法の開発が望まれているのが現状である。平成25年度には、岡山大学病院で進行食道癌、頭頸部癌を対象に、テロメラーゼ活性依存性に癌細胞のみで選択的に増殖して腫瘍融解を引き起すウイルス製剤 Telomelysin と放射線治療を併用する臨床研究を開始した。本研究では、今後の放射線化学療法との併用のための前臨床研究として、各種抗癌剤と Telomelysin の相乗効果を検討した。抗癌剤(5-FUあるいはシスプラチン)を先行、Telomelysin を先行、両者を同時投与の3群の容量依存曲線から CI (combination index) を算出して比較したところ、Telomelysin 先行後にシスプラチンを投与するスケジュールで効果的な相乗効果が認められた。Telomelysin は従来の抗癌剤とは全く作用機序の異なる生物製剤であり、臨床的に低侵襲な局所制御療法として食道癌および頭頸部癌などの難治癌患者の生活の質(QOL)の向上に貢献すると期待される。

### A. 研究目的

Telomelysin はウイルスの生活環に由来する巧妙な分子機構を基盤とする遺伝子改変生物製剤であり、従来の抗癌治療とは全く異なる作用機序を有することから独創性の高いシーズである。Telomelysin は癌細胞の放射線によるDNA傷害の修復を阻害することで放射線感受性を増強し (Kuroda *et al*, Cancer Res., 2010) また腫瘍内に投与された Telomelysin はリンパ流に乗って所属リンパ節領域に拡散する (Kishimoto *et al*, Nature Ned., 2006) 。さらに、ヒトへの Telomelysin 局所投与の安全性は、米国食品医薬品局 (US FDA) の承認のもと、2006年より米国で実施した各種固形癌に対する第I相臨床試験で実証されている (Nemunaitis *et al*, Mol. Ther., 2010) 。本研究では、前臨床研究として各種抗癌剤と Telomelysin の相乗効果を検討し、今後の集学的治療としての Telomelysin の有用性を検証する。

### B. 研究方法

食道癌細胞株をはじめとして各種癌細胞、肉腫細胞などを用いて、各種抗癌剤と Telomelysin の併用効果を検討した。容量依存曲線を作成し、CI (combination index) を算出することで相乗効果の確認を行った。また、抗癌剤先行、Telomelysin 先行、あるいは同時投与など投与スケジュールと投与量を比較し、至適プロトコルを検討した。

(倫理面への配慮)

自立的な増殖力及び感染力を保持しているテロ

メスキャンを用いた研究は「大臣確認実験」となるため、平成16年8月に「第二種使用等拡散防止措置確認申請書」を作成、学内の担当部署での検討の後に文部科学省に申請し、研究計画実施の承認を得ている。平成24年6月、期間延長のため再度申請し、文部科学省にて拡散防止措置の確認を得ている。

### C. 研究結果

上皮系腫瘍細胞として、食道癌細胞株 (TE8、SEG1) を用いて検討を行ったところ、Telomelysin と5-FU、シスプラチンの併用でTE8ヒト食道扁平上皮癌細胞株、SEG1ヒト食道腺癌細胞株、いずれでも相乗効果が認められた。また、抗がん剤先行、同時投与、Telomelysin 先行の3パターンを比較したところ、Telomelysin 先行後に抗癌剤を投与するスケジュールにおいて、より効果的な相乗効果を認めた。

非上皮系腫瘍細胞として骨肉腫細胞株 (HOS、MNNG/HOS、143B、SaOS-2) を用いて、各種抗癌剤 (シスプラチン、5-FU、ドキソルビシン) と Telomelysin の併用効果を検討したところ、Telomelysin とドキソルビシン、シスプラチンの併用ですべての骨肉腫細胞で相乗効果が認められた。

### D. 考察

Telomelysin は癌細胞で選択的に増殖・複製する機能を有しており、自立的に癌細胞を破壊することで増殖したウイルスが拡散していく。テロメラーゼという多くのヒト癌細胞で活性化されている分子を標的として用いることで、広範な癌種に対

応することが可能である。また、Telomelysin による細胞死は、放射線や抗癌剤によるアポトーシスとは異なるオートファジーなどの機序により生じるため、既存の治療法に耐性の癌細胞にも有効であると推測される。

本研究で、実際に上皮系の食道癌細胞ならびに非上皮系の骨肉腫細胞で Telomelysin と抗癌剤（シスプラチン、5-FU、ドキシソルピシン）の相乗効果が明らかとなり、また Telomelysin を先行するプロトコールでより顕著な効果が観察された。今後は、Telomelysin が抗癌剤の感受性を増強するメカニズムについて詳細な解析を行っていくとともに、ヌードマウスと各種癌細胞株を用いて背部腫瘍あるいは同所性腫瘍モデルを作成し、*in vivo* における抗癌剤の全身投与と Telomelysin の局所投与の併用効果を検討していく予定である。

Telomelysin は従来の抗癌剤とは全く作用機序の異なる生物製剤であり、難治癌である食道癌や頭頸部癌に対する放射線化学療法にウイルス療法を併用する集学的治療を確立することで、より低侵襲な局所制御療法として患者の生活の質（QOL）の向上に貢献すると期待される。

## E . 結論

Telomelysin は、上皮系および非上皮系ヒト悪性腫瘍細胞において、抗癌剤と相乗効果を示す。

## F . 研究発表

- 1) Sasaki, T., Tazawa, H., Hasei, J., Osaki, S., Kunisada, T., Yoshida, A., Hashimoto, Y., Yano, S., Yoshida, R., Kagawa, S., Uno, F., Urata, Y., Ozaki, T., Fujiwara, T. A simple detection system for adenovirus receptor expression using a telomerase-specific replication-competent adenovirus. *Gene Ther.*, 20: 112-118, 2013.
- 2) Hasei, J., Sasaki, T., Tazawa, H., Osaki, S., Yamakawa, Y., Kunisada, T., Yoshida, A., Hashimoto, Y., Onishi, T., Uno, F., Kagawa, S., Urata, Y., Ozaki, T., Fujiwara, T. Dual programmed cell death pathways induced by p53 transactivation overcome resistance to oncolytic adenovirus in human osteosarcoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 12: 314-325, 2013.
- 3) Ohara, T., Noma, K., Urano, S., Watanabe, S., Nishitani, S., Tomono, Y., Kimura, F., Kagawa, S., Shirakawa, Y., Fujiwara, T. A novel synergistic effect of iron depletion on anti-angiogenic cancer therapy. *Int. J. Cancer*, 132: 2705-2713, 2013.
- 4) Shigeyasu, K., Kagawa, S., Uno, F., Nishizaki, M., Kishimoto, H., Gochi, A., Kimura, T., Takahata, T.,

Nonaka, Y., Ninomiya, M., Fujiwara, T. Multicenter phase II study of S-1 and docetaxel combination chemotherapy for advanced or recurrent gastric cancer patients with peritoneal dissemination. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 71: 937-943, 2013.

- 5) Nobuoka, D., Yoshikawa, T., Takahashi, M., Iwama, T., Horie, K., Shimomura, M., Suzuki, S., Sakemura, N., Nakatsugawa, M., Sadamori, H., Yagi, T., Fujiwara, T., Nakatsura, T. Intratumoral peptide injection enhances tumor cell antigenicity recognized by cytotoxic T lymphocytes: a potential option for improvement in antigen-specific cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 62: 639-652, 2013.
- 6) Li, G.D., Kawashima, H., Ogose, A., Ariizumi, T., Hotta, T., Kuwano, R., Urata, Y., Fujiwara, T., Endo, N. Telomelysin shows potent antitumor activity through apoptotic and non-apoptotic cell death in soft tissue sarcoma cells. *Cancer Sci.*, 104: 1178-1188, 2013.
- 7) Yano, S., Tazawa, H., Hashimoto, Y., Shirakawa, Y., Kuroda, S., Nishizaki, M., Kishimoto, H., Uno, F., Nagasaka, T., Urata, Y., Kagawa, S., Hoffman, R. M., Fujiwara, T. A genetically engineered oncolytic adenovirus decoys and lethally traps quiescent cancer stem-like cells into S/G2/M-phases. *Clin. Cancer Res.*, 19:6495-6505, 2013.
- 8) Hashimoto, Y., Tazawa, H., Teraishi, F., Kojima, T., Watanabe, Y., Uno, F., Yano, S., Urata, Y., Kagawa, S., Fujiwara, T. The hTERT promoter enhances the antitumor activity of an oncolytic adenovirus under a hypoxic microenvironment. *PLoS One*, 7: e39292, 2012.

## G . 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1.特許取得  
該当なし

2.実用新案登録  
該当なし

3.その他  
該当なし