

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
「化学療法に対する抵抗性を克服することを目的とした希少がん(悪性胸膜中皮腫)
治療薬開発のための医師主導治験の実施」

悪性胸膜中皮腫に対する HVJ-E の薬効・薬理に関する研究

研究分担者 金田安史（大阪大学大学院医学系研究科・教授）

李千萬（大阪大学医学部附属病院未来医療開発部 特任准教授）

研究要旨

HVJ-E は不活性化したセンダイウイルス粒子であるが、この粒子自体に多彩な抗腫瘍作用があることが明らかになり、メラノーマや前立腺癌に対する臨床試験が行われている。その作用の1つは、抗腫瘍免疫の活性化であり腫瘍細胞に対する CTL (cytotoxic T cell), NK (natural killer) cell の活性化や制御性 T 細胞の抑制を起こすことができる。一方、前立腺癌やグリオブラストーマなどの腫瘍細胞に対しては腫瘍細胞選択的なアポトーシスを誘導するが、それは HVJ-E に含有されるウイルス RNA 断片が RIG-I (retinoic acid-inducible gene I) によって認識され、それが MAVS (mitochondria anti-viral signaling protein) に伝えられて、アポトーシス誘導因子の TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) や NOXA (ラテン語で damage の意味) を癌細胞選択的に活性化することが原因であることが分かっている。様々なタイプ（上皮型、肉腫型、二相型）のヒト悪性胸膜中皮腫細胞 (malignant pleural mesothelioma; MPM) に対しても HVJ-E は細胞死を誘導し、ヒト前立腺癌細胞株 PC-3 と同等の細胞増殖抑制効果を有していた。実際に、EHMES 細胞に HVJ-E を作用させると Noxa, TRAIL の遺伝子発現がそれぞれ 8 倍、2 倍増強されることが明らかになった。PC3 細胞でみられるような Interferon- β に発現増強は起こらなかった。しかし RIG-I, MAVS の siRNA によりそれぞれの遺伝子発現を抑制しても、Noxa, TRAIL の発現は抑制されなかった。そこで、MPM 細胞における HVJ-E の感受性遺伝子を網羅的に調べるため、CRISPR/Cas9 系を利用して網羅的に遺伝子をノックアウトして HVJ-E 耐性細胞を分離し、責任遺伝子を明らかにする研究を開始した。もう1つの抗腫瘍作用は抗腫瘍免疫の活性化であり、腫瘍に対する CTL (cytotoxic T cell) や NK (natural killer) cell の活性化と制御性 T 細胞の抑制であることを既に報告している。その分子機構は、前者のエフェクター細胞の活性化については、virus RNA 断片が樹状細胞や腫瘍細胞に膜融合で導入され、RIG-I 経路を活性化して、IFN- β , IP-10, RANTES 等の産生を増強することによっており、後者の制御性 T 細胞の抑制は、F 蛋白質が直接樹状細胞を刺激して NF- κ B の経路を活性化して IL-6 産生を促進させることによることを明らかにしている。しかし腫瘍組織内の HVJ-E の標的細胞は腫瘍細胞自体と樹状細胞であることは既に報告しているが、HVJ-E を投与したメラノーマ患者の腫瘍組織ではマクロファージの浸潤が著明であることから、マクロファージも標的細胞になるのではないかと考えた。そこで骨髄や腫瘍組織からマクロファージを分離して、HVJ-E を作用させた結果、HVJ-E は M2 マクロファージを M1 型にシフトさせることにより T 細胞を Th1 型にシフトさせ、CTL 機能を増強させることが明らかになった。またその経路は、RIG-I を経由したものであること、また RIG-I 経路とは別に NF- κ B の経路が関与していることが示唆された。

マウス中皮腫モデル治療実験で、HVJ-E の高い抗腫瘍効果を確認でき、抗癌剤との併用治療実験では

相乗効果を認めた。

A 研究目的

本事業全体の目的は、大学発の知財権を国内外で確保した純国産医薬 HVJ-E を、標準的化学療法が奏効しなくなった化学療法抵抗性悪性胸膜中皮腫症例に対し投与する医師主導治験を行い、化学療法抵抗性悪性胸膜中皮腫に対する革新的がん治療薬の実用化を目指すものである。その中で本研究の目的は、悪性胸膜中皮腫に対する HVJ-E の抗腫瘍作用をさらに解明することにより、有効性の高い投与方法、投与計画を打ち立てて医師主導治験に貢献するとともに、HVJ-E の機能をさらに高めて治療効果を増強できる新規治療剤の開発に資することにある。

B 研究方法

HVJ は ATCC より購入した Sendai virus の Z 株 (VR-105 parainfluenza 1 Sendai/52) を用い、有精鶏卵で増殖させ、遠心法により生成した。LLCMK2 細胞に HVJ を感染させて 24 時間以降に培養液中に産生される HVJ は不活性型 F 蛋白質 (F0) を有し融合能を持たない。この HVJ を低濃度 (0.0004 %) のトリプシンで処理すると F1, F2 に開裂し融合能を持つようになる。また LLCMK2 細胞中に HVJ の HN 遺伝子に対する siRNA を導入しておいて、24 時間後に HVJ を感染させると産生される HVJ は HN 蛋白質をほとんど有しないため、HVJ 受容体であるガングリオシドに結合できず融合能を欠失したウイルスとなる。また高濃度のトリプシンを HVJ に処理し膜蛋白質の F, HN を分解した融合能のない HVJ も作成した。いずれの HVJ も紫外線 (99 mJoule/cm²) で不活性化し HVJ-E とし

た。

ヒト MPM 細胞としては、上皮型の MPM 細胞株 (ACC-MESO-4)、二相型 (MSTO-H211, EHMES)、や肉腫型 (ACC-MESO-1, H2052) の細胞株を用いた。正常のヒト胸膜細胞株として Met-5A を用いた。マウス MPM 細胞として、AB22G2 を用いた。EHMES 細胞は愛媛大学より供与を受けた。その他は ATCC より購入した。HVJ 受容体の産生ガングリオシドの解析は、HPLC 法により行った。HVJ-E に対する感受性は、96well plate に 1 well あたり 5000 個の細胞を播き込み、HVJ-E を 1000, 2000 moi (multiplicity of infection) で培養液中に投与し、24 時間後の細胞生存を MTT 法で測定した。ポジティブコントロールとしては、すでに高感受性であることを報告しているヒト前立腺癌細胞 PC3, DU145 やヒトグリオブラストーマ細胞株 U251 を用いた。また癌細胞と HVJ-E の親和性を観察するため、PKH26 により標識した HVJ-E を培養液中に投与し、蛍光顕微鏡で観察した。

RIG-I, MAVS の siRNA (Sigma) については既に報告している配列 (Clinical Cancer Res. 2012) を lipofectamine RNAimax (Invitrogen) で導入した。Noxa, TRAIL, RIG-I, MAVS, MDA5, IFN- β の発現については q-PCR で行った。

マウス骨髄由来の初代培養マクロファージの調整、及び M1, M2 分極誘導は、以下のように行った。C57BL/6N () 由来骨髄細胞を 10% L929 条件培地含有 RPMI 完全培地に 4.5×10^5 cells/mL で懸濁し、10 cm 培養皿に 10 mL (4.5×10^6 cells/dish) を播種・培養した。4 日後、培養培地 10% 量 (1 mL) の L929 条件培地を加え、更に 3 日

間培養した。培養皿に接着している細胞を不活性型マクロファージとして回収した。不活性型マクロファージを RPMI 完全培地に 1×10^6 cells/mL で懸濁し、100 ng/mL LPS (Sigma-Aldrich Co., ST. Louis, USA) あるいは 10 ng/mL M-CSF (WAKO Junyaku Inc., Osaka, Japan) と 20 ng/mL IL-4 (WAKO) を加えて 6 穴プレートに 1 mL (1×10^6 個) 播種して、24 時間培養した。マウス骨髄由来 M2 マクロファージへの HVJ-E 刺激実験においては、6 穴プレートで培養したマウス骨髄由来 M2 マクロファージ (1×10^6 cells/well) の培地を除去し、700 μ L の HVJ-E 含有血清不含 RPMI 培地 (2,000 HAU/mL) 中で培養した。1 時間後、最終濃度が 10 ng/mL M-CSF と 20 ng/mL IL-4 なるように希釈した RPMI 完全培地を 300 μ L 加え、23 時間培養した。マクロファージ形質の変化は、IL-6、IL-12、TNF- α 、IFN- β 、IFN- γ 、NOS2、Arg1、Fizz1、Ym1、T-bet、Eomes、STAT1、Granzyme A、Granzyme B、18S の発現量をリアルタイム RT-PCR によって測定することにより検討した。また抗 NOS2、抗 NF- κ B p65 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Texas, USA)、抗 Arg1、抗 β -actin (Sigma)、抗 Ym1 (Abcam, Cambridge, UK)、抗 RIG-I、抗 TBP (Cell Signaling., USA) 抗体を用いた Western blot によっても行った。さらにマクロファージ培養上清中の IL-6、TNF- α を ELISA 法で測定し、NO 濃度の測定を Griess Reagent System (Promega., Tokyo, Japan) を用いて行った。NF- κ B の阻害剤投与は、骨髄由来 M2 マクロファージを 700 μ L の 30 μ M NF- κ B p65 阻害剤 (JSH-23) (SYMANSIS., California,

USA) 含有血清不含 RPMI 培地で 30 分間、37 °C で培養した。

マウス中皮腫モデル治療実験として、ヒト悪性胸膜中皮腫細胞株 MSTO211H (2×10^6 個) を CB-17/SCID マウスの壁側胸膜内へ接種して作製したヒト悪性胸膜中皮腫担癌マウスに対し、接種後 9 日目に HVJ-E の腫瘍内投与ならびに抗癌剤シスプラチンの投与を行った。また、その 7 日後より HVJ-E の皮下投与を 2 週毎に行い、マウスの生存率を検討した。

(倫理面への配慮)

動物実験についてはすでに大阪大学医学系研究科での審査を受けており、その安全委員会の指針に従って施行された。また組換え DNA の実験については、組換え DNA 実験計画の機関承認が得られており、大学等における組換え DNA 実験指針に従って行った。本計画においては、臨床研究データの使用や患者資料の使用、ヒト遺伝子解析などは含まれなかった。

C 研究結果

1 . MPM 細胞の HVJ-E 感受性

MPM 細胞の HVJ 受容体である酸性ガングリオシドの HPLC での解析パターンを図 1 に示す。HVJ 受容体である GD1a, SPG の総酸性ガングリオシドに占める割合は、METO-H211; 3.3%, EHME5; 15.5%, MESO-1; 10.7%, MESO-4; 6.7%, H2452; 40.9%, Met5A; 10.2%であった。他の腫瘍細胞と大きな違いはなかった。ちなみにマウス MPM 細胞の AB22G2 は 0%であった。PKH26 標識した HVJ-E を MPM 細胞の中で最も受容体の発現の低い METO-H211 に

作用させると図 2 に示すように、前立腺癌細胞の DU145 と同様な染色パターンが得られ、同じような HVJ-E との親和性が示された。そこで HVJ-E を各 MPM 細胞に作用させ、生存率を MTS assay により測定した。図 3 のように、どのヒト MPM 細胞もヒト前立腺癌細胞 PC3 と同じような細胞死が誘導され、生存率の低下がひきこされた。また正常の Met-5A は受容体があるにもかかわらず、細胞死誘導は起こらなかった。なお受容体のないマウス MPM 細胞の AB22G2 は全く影響を受けなかった。

2 . EHMES 細胞の HVJ-E 感受性機構

治療が難しい MPM の 1 つである二相型の EHMES に HVJ-E を作用させた時の、遺伝子発現パターンを定量 PCR によって解析した。すでに報告しているように HVJ-E による腫瘍細胞選択的なアポトーシスの経路は、RIG-I, MAVS によるシグナル伝達である (Clinical Cancer Res. 2012)。RIG-I は Type I, II の IFN による誘導が知られている。図 4 に示すように RIG-I は U251, PC3, DU145, PNT2 (正常前立腺上皮細胞株) で誘導されるが、EHMES ではほとんど誘導されなかった。MAVS の発現誘導はどの細胞においてもほとんど認められなかった。また HVJ ゲノムを認識しない RNA 受容体の MDA5 は、どの細胞においても HVJ-E の刺激でやや上昇した。細胞死に関連する TRAIL, Noxa および IFN- β の発現をみると、EHMES では他の腫瘍細胞と同じく HVJ-E による Noxa の発現誘導がおこったが、TRAIL の発現は 2 倍程度しか誘導されなかった。また IFN- β は他の細胞とは異なり、全く誘導が見られなかった。そ

こで RIG-I, MAVS の siRNA を用いて TRAIL, Noxa の遺伝子発現を調べると、RIG-I (3 種類の siRNA はすべて抑制可能), MAVS (siMAVS-1 のみ抑制に成功) を抑制した状態であるにもかかわらず、TRAIL, Noxa とともに HVJ-E による発現誘導は抑制されなかった。そこでアポトーシスの阻害剤として Pan-caspase inhibitor である z-VAD-fmk を用いて、HVJ-E による細胞死への影響を見たところ、z-VAD-fmk では抑制が全く見られなかった。

3 . HVJ-E のマクロファージに与える影響

骨髄由来 M2 マクロファージに HVJ-E を投与した時の遺伝子発現の変化を mRNA 及びタンパク質レベルで検討した。その結果、図 7 のように、M2 マクロファージの HVJ-E 刺激による IL-6, NOS2, TNF- α の発現上昇と Arg1, Fizz1, Ym1 の発現低下がリアルタイム RT-PCR によって確認された。また HVJ-E 刺激による NOS2 発現増加と Ym1 発現減少がウエスタンブロットによって確認され、IL-6, TNF- α , NO の分泌促進が ELISA 及び NO 測定によって確認された。さらに、データは示さないが、M2 マクロファージの HVJ-E 刺激によって、NOS2+ 細胞が約 10 倍に増加することが FACS によって明らかになった。これらの結果から、HVJ-E 刺激によってマウス骨髄由来 M2 マクロファージが M2 表現型から M1 表現型にシフトしたことが明らかとなり、HVJ-E が M2 から M1 への再分極誘導能を有することが示唆された。HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極誘導において RIG-I が関与するか検討した(図 8)。HVJ-E 刺激 M2 マクロ

フェージにおける RIG-I 発現の変化をウエスタンブロットにより検討した結果、HVJ-E 刺激によって RIG-I 発現を増加させることが確認された。また、RIG-I をノックダウンすることで M2 マクロファージの HVJ-E 刺激による NOS2 発現上昇と Ym1 発現低下が抑制された。

一般的に、マクロファージの活性化には NF-kB が重要であり、M1 マクロファージへの分極には NF-kB の p65/p50 複合体が核内へ移行するのに対して、M2 マクロファージへの分極には NF-kB の p50/p50 複合体が核内へ移行することが知られている。そこで HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極化において、NF-kB p65/p50 の活性化が関与しているのかを検討した。まず M2 マクロファージの HVJ-E 刺激により濃度依存的に NF-kB p65 の核内移行が促進することが確認したので、次に、NF-kB p65 阻害剤 (JSH-23) によって HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極が抑制されるかを検討したところ、M2 マーカー遺伝子 (Arg1、Fizz1、Ym1) 発現には変化が無かったが、NOS2、IL-6、TNF- α といった M1 マーカー遺伝子の発現が抑制されることが明らかとなった (図 9)。これらの結果から、HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極には NF-kB p65 の活性化が関与することが考えられる。

次に HVJ-E 刺激後の M2 マクロファージが T 細胞を活性化するかどうかを調べるために、HVJ-E 刺激マクロファージと脾臓 T 細胞を共培養した。共培養 48 時間後に浮遊している T 細胞を回収し、リアルタイム RT-PCR で T 細胞活性化に関する遺伝

子発現を調査した。その結果、HVJ-E 刺激 M2 マクロファージとの共培養群では活性化 Th1 マーカーである STAT1 と活性化 CD8⁺ T 細胞マーカーであるグランザイム A、B の発現上昇が確認された (図 10)。また、同様に処理した T 細胞における初期活性化リンパ球マーカーである CD69 の発現を FACS により解析した。その結果、HVJ-E 刺激 M2 マクロファージにおいて CD69⁺ T 細胞集団が約 2 倍増加していることも明らかとなった。これらの結果は HVJ-E 刺激 M2 マクロファージが脾臓 T 細胞を活性化し、Th1 反応を増強することを示唆している。

4. マウス中皮腫モデル治療実験

非臨床試験において悪性胸膜中皮腫 (MPM) は HVJ-E に対する高い感受性を有しており、MPM 担癌マウスへの治療実験において高い抗腫瘍効果が認められた (平均生存日数 39.5 日 vs コントロール群 27 日)。さらに、臨床で投与されている抗癌剤シスプラチン (5 mg/kg) 単回投与に HVJ-E 治療を上乗せした治療群では、シスプラチン単回投与群よりも有意な生存期間の延長を認め、HVJ-E とシスプラチンとの併用による相乗効果を認めた (平均 57 日以上 vs 42.6 日)。

D 考察

1. HVJ-E による MPM 細胞死誘導に関して

HVJ-E による腫瘍細胞死は、主として RIG-I によってウイルス RNA 断片が認識され MAVS を活性化して、IRF(interferon regulatory factor)1,3,7 等の転写因子の核内

移行を促進しアポトーシス関連遺伝子の TRAIL, Noxa 等の遺伝子発現を腫瘍細胞選択的に増強することによっている。その細胞死は、RIG-I, MAVS の siRNA で抑制される。MPM 細胞においても腫瘍細胞選択的な細胞死がおこり、Noxa の転写が増強された。しかし RIG-I, MAVS の siRNA では Noxa の転写活性化は抑制されなかった。pan-caspase inhibitor の z-VAD-fmk でも抑制されずアポトーシスの可能性は低くなった。今後さらに詳細な検証を他の中皮腫細胞も含めて行うことが必要である。顕微鏡下では、EHMES は HVJ-E により細胞の断片化が明瞭には観察できておらず、融合したような大きな細胞がそのまま浮き上がって死滅するような像が観察されている。我々は既に、Caspase 8 欠損の神経芽腫細胞において HVJ-E による細胞死がおこるが、それはアポトーシスではなくプログラム化されたネクローシス(ネクロトーシス)であることを報告している (Cancer Res. 2014)。そのときには virus RNA や RIG-I, MAVS の関与はなく、膜融合刺激が細胞質の calcium 濃度を高めて CaM-kinase を活性化して RIP-1 の活性化と RIP-1,-3 の複合体形成を起こす。同様なメカニズムが MPM 細胞でも機能している可能性がある。しかし Caspase-8 は発現しており、神経芽腫のような Caspase-8 欠損による Rip-1 の活性化ではなさそうである。プログラム化されたネクローシスの阻害剤である Necrostatin の影響、活性酸素の産生の確認などを計画している。

一方、もっと網羅的に細胞死に関与する遺伝子を探索するために、CRISPR/Cas9 系を利用することにした。すでに CRISPR の

guide RNA を搭載したレンチウイルスのライブラリーを入手している。これは 1 遺伝子に 6 つの guide RNA sequence を含むもので、Cas9 の発現細胞に、このレンチウイルスを感染させ、HVJ-E による細胞死からまぬがれる細胞を集めて、その guide RNA の配列を高速シーケンサーで解読すれば、標的遺伝子候補が得られるものである。すでに Cas9 を安定に発現する EHMES 細胞株を分離した。コントロールとして HVJ-E 高感受性のヒトグリオブラストーマ U251 細胞においても Cas9 発現株を分離した。

2 . HVJ-E の抗腫瘍免疫活性化におけるマクロファージの関与について

HVJ-E の標的細胞として従来明らかになっていた腫瘍細胞と樹状細胞以外にマクロファージに注目したのは、メラノーマ患者の組織で HVJ-E 投与後にマクロファージの集積が顕著であることが 1 つである。その他に、ラットの皮下に HVJ-E を投与後の virus RNA の局在を検証した結果にもよっている。その場合、virus RNA は投与部位では 24 時間で消失するが所属リンパ節で 1 週間以上安定に存在していた。これはコロイド粒子の皮下投与後と同じタイムコースであり、貪食細胞にトラップされて移動したことを示唆している。予想通り、HVJ-E によりマクロファージは M2 から M1 に分極し、これが T cell の腫瘍細胞の攻撃力を高める結果となった。今回は正常マウスから採取したマクロファージであるので、次は腫瘍関連マクロファージにも HVJ-E が作用して M1 に分極できるかどうかを検証する必要がある。またクロドロネート含有リボソームを投与して腫瘍内のマクロファージを除

去した時に、HVJ-E の抗腫瘍効果がどのように影響を受けるかを調べるのが重要である。従来の報告では、腫瘍関連マクロファージを除去すると抗腫瘍効果が増強され、腫瘍が抑制される。しかし HVJ-E を用いた時の抗腫瘍効果は、マクロファージ除去により元弱されるのではないかと予想される。いずれにしても極めて重要な実験であると認識している。

一般的に、M1 マクロファージへの分極には NF- κ B p65/p50 がマスターレギュレーターとして機能していることが知られ、HVJ-E の M2 マクロファージ刺激による M1 分極誘導においても NF- κ B p65 の活性化が重要な役割を果たすことが確認された。しかし、NF- κ B p65 阻害剤投与によって、HVJ-E 刺激による M1 マーカー遺伝子 (IL-6、TNF- α 、NOS2) の発現亢進は抑制されたが、M2 マーカー遺伝子 (Arg1、Fizz1、Ym1) の発現抑制を解除することはなかった。この結果は、HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極誘導には NF- κ B p65/p50 活性化だけでなく別のシグナルも寄与していることを示唆している。HVJ-E は RIG-I の活性化によって M2 マクロファージの M1 分極を誘導することが示されたが、RIG-I 活性化のシグナルは TRAF6 を介した NF- κ B 経路と TRAF3 を介した 1 型インターフェロン経路を活性化することが報告されている。実際に、HVJ-E 刺激後の M2 マクロファージ刺激では NF- κ B 経路非依存的な IFN- γ 発現増加が確認された。1 型インターフェロン経路もまた M1 分極に関与するという報告があることから、HVJ-E 刺激による M2 マクロファージの M1 分極誘導には NF- κ B p65/p50

活性化だけでなく 1 型インターフェロン刺激も寄与している可能性がある。

我々はすでに HVJ-E の F 蛋白質がマクロファージの膜蛋白質に作用して NF- κ B のシグナルを活性化して IL-18 の転写を増強するという結果を得ている。このことからマクロファージの膜表面に F 受容体があることが示唆されるが、今まで報告がない。F 蛋白質とマウスマクロファージ細胞株である P388D1(この細胞においても HVJ-E により IL-18 の転写が活性化される)の膜分画を作用させて、免疫沈降させた中から、複数の受容体候補が見つかっており、今後さらに解析を進める予定である。このレセプターを介したマクロファージの形質転換の可能性も十分あると考えられ、それを解明することは、抗腫瘍免疫の活性化機構に全く新しい知見を提供できるであろう。

4 . マウス中皮腫治療実験

マウス中皮腫モデル治療実験において、HVJ-E の高い抗腫瘍効果を確認でき、抗癌剤との併用治療実験では相乗効果を認めた。これは従来の抗がん剤とは異なるメカニズムで治療効果が得られることを示している。今後ペメトレキセドとシスプラチンを用いた抗癌剤治療に HVJ-E を併用した治療実験を行う予定である。

E 結論

ヒト MPM 細胞は HVJ に親和性が高く、HVJ-E により細胞死が誘導される。しかしその経路は従来の RIG-I/MAVS 経路とは異なる可能性がある。一方、HVJ-E による抗腫瘍免疫の活性化、特に CTL 活性の増強にはマクロファージが大きく関与している可能性があり、そのシグナル伝達経路として、

RIG-I を刺激する経路と、それとは別に NF- κ B の活性化を介する経路があることが示唆された。マウス中皮腫モデル治療実験において、HVJ-E の高い抗腫瘍効果を確認でき、抗癌剤との併用治療実験では相乗効果を認めた。

F 健康危険情報
異常なし

G 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

第 11 回日本中性子捕捉療法学会 教育講演
Kaneda, Y. “ウイルスに学ぶ癌治療戦略”
2014/7/6 大阪

第 20 回日本遺伝子治療学会 理事長講演
Kaneda, Y. “Development of anti-cancer strategies using Sendai virus envelope (HVJ-E) and current status of clinical applications to treat cancer patients”
“2014/8/7 東京

第 8 回韓国遺伝子細胞治療学会 招待講演
Kaneda, Y. “Virosome-mediated cancer treatment ~from basic to clinic~” 2014/10/11
Osong (Korea)

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1: 各種細胞株におけるHVJ受容体の発現パターン

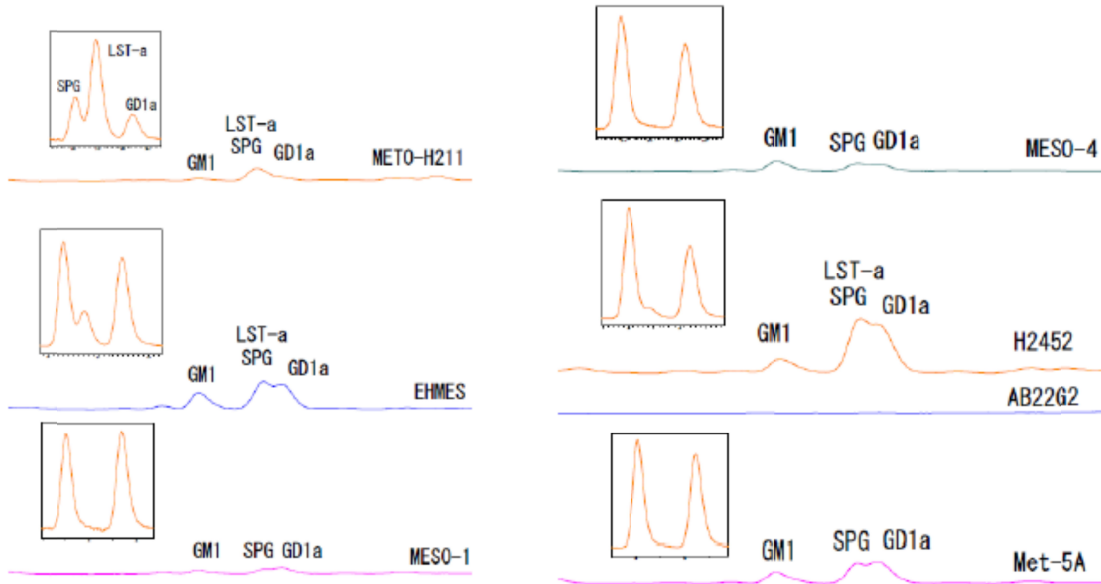


図2: HVJ-Eのヒト胸膜中皮腫との親和性

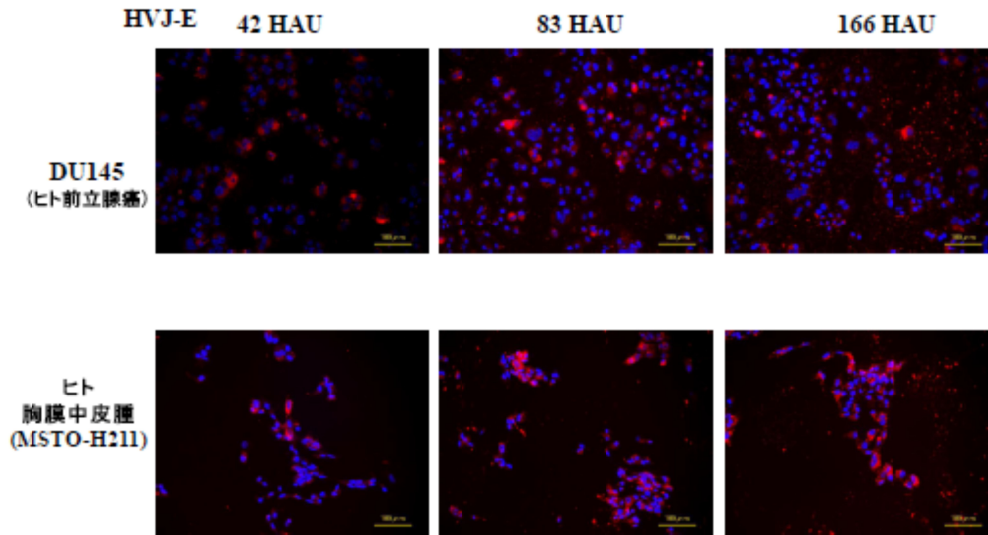
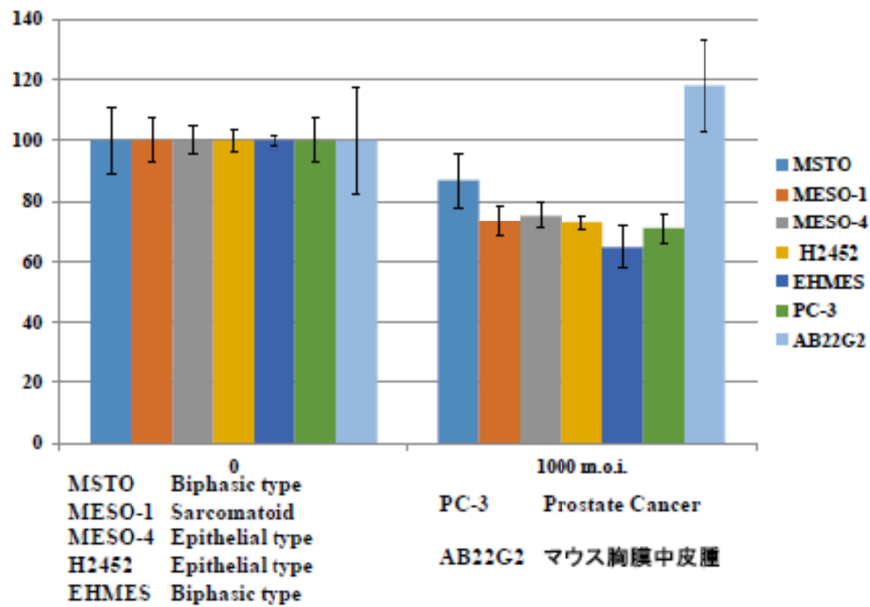


図3:HVJ-Eの細胞増殖抑制効果



HVJ-Eは、ヒト前立腺癌と同様に、ヒト胸膜中皮腫のどのタイプにも細胞増殖抑制効果を示すが、一方マウス胸膜中皮腫細胞への増殖抑制効果を示さなかった。

図4:HVJ-E 1000MOI 24時間後における、EHMESと他の細胞群との発現比較

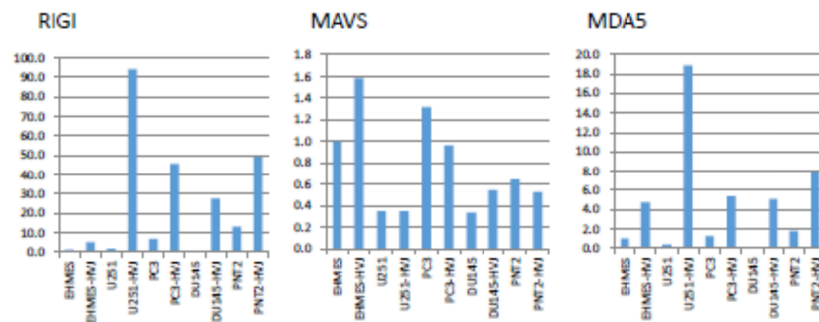


図5: HVJ-Eによるアポトーシス関連遺伝子とインターフェロンの発現比較

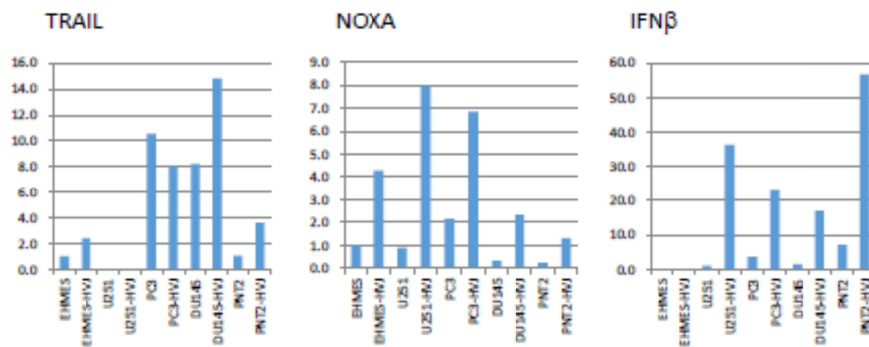


図6: EHMESをRIGI、MAVSノックダウン時のTRAIL、NOXAの発現解析
HVJ-E 1000MOI 24時間後

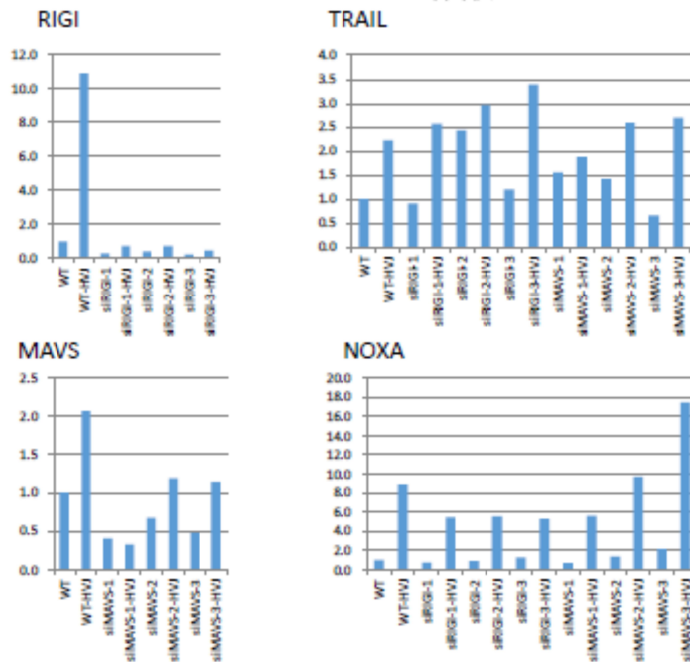


図7:HVJ-Eによるマウスマクロファージの形質変化

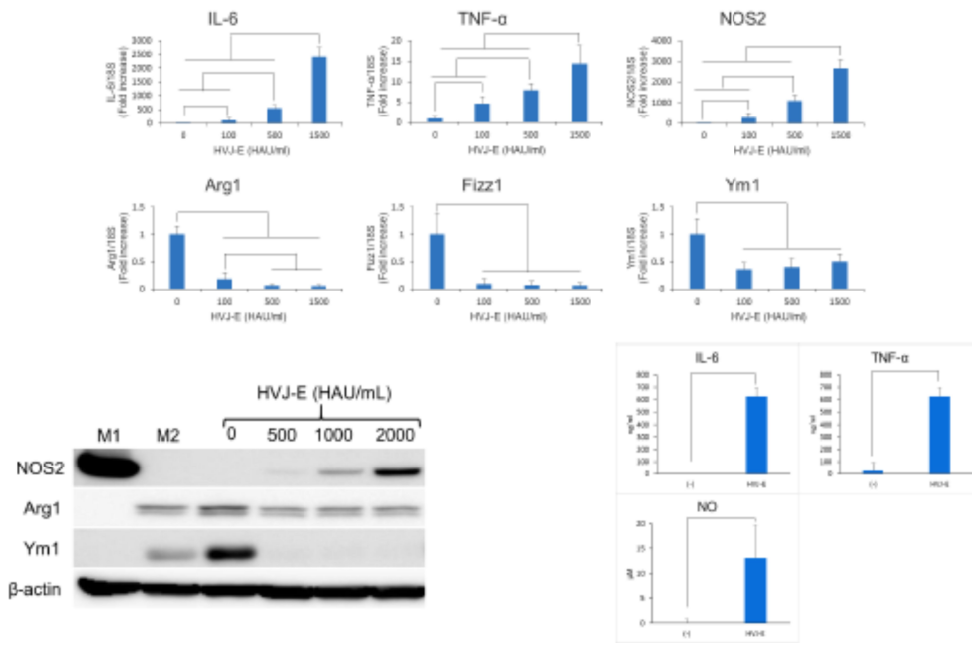


図8:HVJ-Eによるマクロファージの形質変化に及ぼすRIG-Iの関与

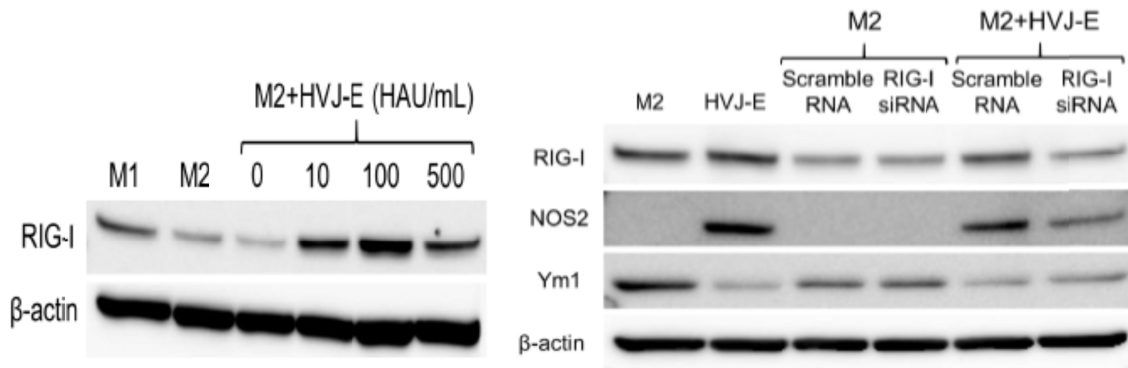


図9:HVJ-Eによるマクロファージの形質変化に及ぼすNF-kappa B (p65)の関与

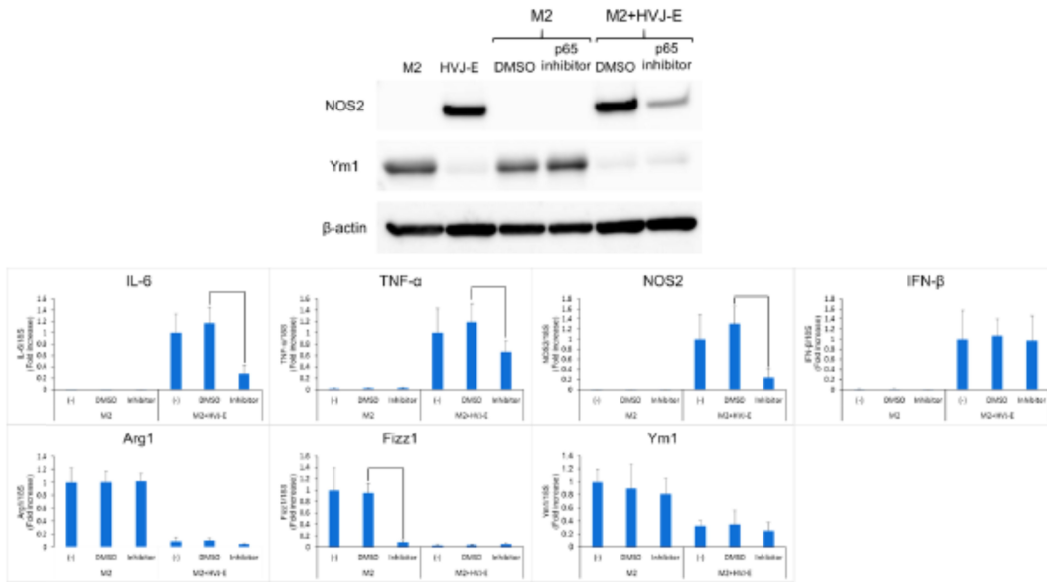


図10:HVJ-Eで刺激したM2マクロファージのT細胞機能に与える影響

