

単純ヘルペスウイルスのがん標的化改変による新規バイオ医薬の創成

東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 臓器細胞工学分野

講師 内田 宏昭

(共同研究者)

東京大学医科学研究所 教授 田原 秀晃

はじめに

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いる。ついに昨年10月、Amgen社が開発した遺伝子組換えHSV製剤Imlygic (talimogene laherparepvec) が欧米で初めて医薬品として承認されるに至り、本研究分野はさらに大きな期待を集めている。

私たちは最近、HSVの標的化改変に独自に成功した (Shibata et al., Gene Therapy, 2016; Uchida et al., Molecular Therapy, 2013)。HSVの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、epidermal growth factor receptor (EGFR)・carcinoembryonic antigen (CEA)・epithelial cell adhesion molecule (EpCAM) など異なる腫瘍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)。

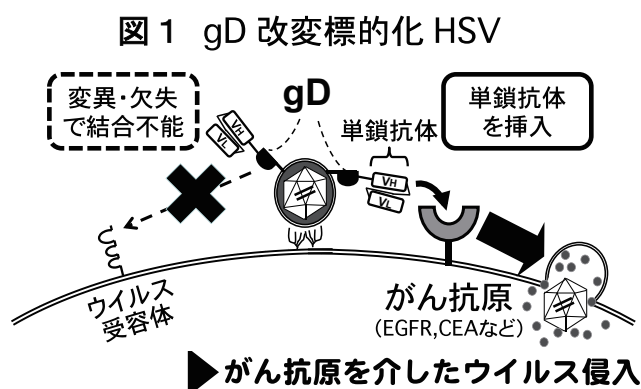
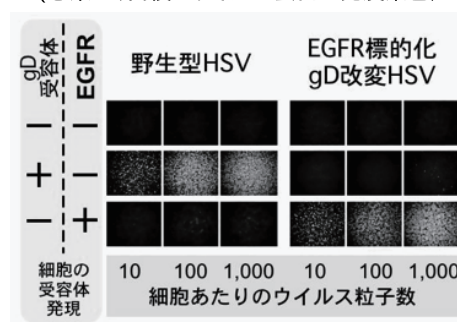


図2 標的化 HSV の特異性
(感染6時間後のウイルス蛋白の免疫染色)



本研究では、これらの標的化HSVが特異的侵入を遂げた後の細胞間伝播ならびに殺細胞効果を増強する方法を確立することに取り組んだ。

結 果

私たちは、HSV感染における膜融合の活性を増強することが知られている Syncytial (syn) 変異に着目して研究を進めた。野生型HSVの感染によって生じるプラークは感染細胞の円形

化を特徴とする一方、syn変異を有するHSV亜株では、感染細胞がこれに隣接する非感染細胞と融合することを繰り返すことにより多核巨細胞が形成される。過去に数多くのsyn変異が報告されているが、その大半はウイルスのエンベロープ糖タンパク質gBおよびgKに同定されている。

そこで、EGFR標的化HSVにgBおよびgKのsyn変異のうち、一つあるいは両方を組み込んだウイルスを作製し、細胞間伝播の効率を検討した。その結果、親株のEGFR標的化ウイルスではごく小さなプラークしか生じなかったヒト膀胱がん細胞株すべてにおいて、gBとgKのsyn変異の両方を用いることにより、非常に大きな多核巨細胞からなる感染プラークを形成した(図3)。興味深いことに、gB変異の方が有効な細胞株(PANC-1)、逆にgK変異の方が有効な細胞株(PK-8)が存在し(図3)、HSVによる細胞融合の分子機序におけるgBとgKの作用点が異なることが示唆されたとともに、複数のsyn変異を併用することの有用性が明らかとなった。また、2つのsyn変異を導入したEGFR標的化ウイルスは親株よりも効率良く標的がん細胞を殺傷した(図4)。これに加えsyn変異の導入による標的化スプレッドの増強効果はEGFR以外のがん抗原をターゲットとした標的化HSVにも認められ、このアプローチは様々ながん抗原に対して応用可能であることが示唆された。さらに、感染が成立した標的がん細胞がこれに隣接する非標的細胞と融合してしまうことは認められず、ウイルスの細胞間伝播の標的的特異性が確認された。

図3 syn変異が標的化HSVのプラークサイズに及ぼす効果
(感染3日後の感染プラークの観察)

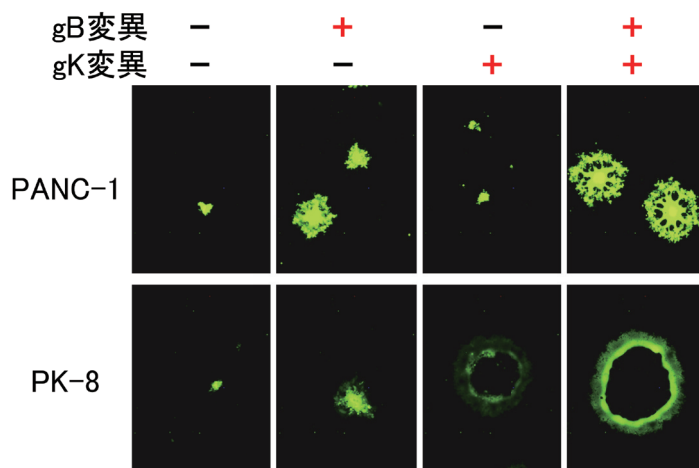
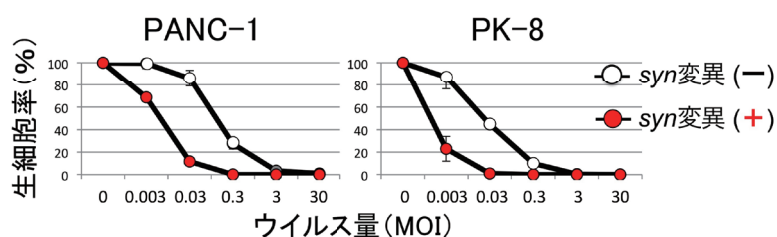


図4 syn変異が標的化HSVのがん細胞殺傷能に及ぼす効果
(感染4日後の生細胞率; MTTアッセイ)



考 察

以上の結果より、syn変異の導入は標的化HSVの高いがん特異性を維持しつつ、その腫瘍溶解活性を増強可能であることが示唆された。本研究の成果は、高い治療効果と安全性を両立した革新的なバイオ医薬として臨床医学への実用化につながりうる。

要 約

私たちは最近、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の構築に成功した。本研究では、特異的侵入を遂げた標的化HSVの細胞間伝播ならびに殺細胞効果をsyncytial変異の導入により増強できることを見出した(Okubo et al., Journal of Virology, in press)。本研究の成果は、高い治療効果と安全性を両立した革新的なバイオ医薬として臨床医学への実用化につながりうる。

最後になりましたが、本研究課題にご助成いただきましたこと、心より深く御礼申し上げます。

文 献

1. 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. In press. *Corresponding author.
2. 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.
3. 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.