

腫瘍溶解ウイルス HF10 を用いた 頭頸部扁平上皮癌への新たな抗腫瘍療法の開発

名古屋市立大学大学院
耳鼻咽喉・頭頸部外科 講師 江崎伸一

1. 研究の背景・目的

頭頸部領域に発生する悪性腫瘍の 90%以上が扁平上皮癌である。手術療法、化学療法、放射線療法を組み合わせた集学的治療により予後は改善しているが、20-30%の割合で局所もしくは遠隔臓器に再発する。再発腫瘍に対する治療選択肢は乏しいため、新しい治療法の開発が必要とされているのが現状である。

名古屋大学医学部ウイルス学講座では、自然発生の弱毒型単純ヘルペスウイルス 1 型から HF10 を分離し、HF10 の腫瘍溶解ウイルスとしての適性と安全性について明らかにしてきた。また名古屋大学で頭頸部扁平上皮癌、乳癌、膀胱癌を対象として臨床試験を行い、癌細胞破壊作用と安全性を確認した。現在では米国ピッツバーグ大学を中心とした多施設にて、扁平上皮癌、乳癌、悪性黒色腫を対象とした第 I/II 相試験が行われている (NCT01017185)。そこで、頭頸部扁平上皮癌を用いてマウス担癌モデルを作成し、HF10 の抗腫瘍効果、誘導される抗腫瘍免疫につき検討した。本研究により、我が国で初めて治療が行われた HF10 の臨床治療をさらにすすめることを目的としている。

昨年度までの研究で、抗腫瘍ウイルス HSV-1 HF10 を複数の頭頸部扁平上皮癌細胞株に感染させたところ、感染価 (pfu) 依存的に HF10 の抗腫瘍効果が認められた。また、マウス扁平上皮癌細胞株 SCC-VII で耳介腫瘍モデルマウスを作成し、HF10 を 2 回腫瘍内に接種したところ、腫瘍の縮小効果と生存の延長が認められた。また、60%のマウスにおいては耳介腫瘍が完全に消失した。生存したマウスに腫瘍を再接種したところ、腫瘍形成が認められず、HF10 治療により抗腫瘍免疫の誘導されたことが示唆された。そこで、本研究では HF10 の免疫への効果を局所性免疫、全身性免疫の両側から検討した。

2. 研究の対象ならびに方法

1) 組織学的検討

局所免疫を評価するために組織学的検討を行った。マウス右耳介に腫瘍を作成し、HF10 もしくはコントロールとしての PBS を 2 回腫瘍内に接種し、24 時間後に耳介腫瘍を含んだ組織を採取した。連続切片を作成し、H&E 染色、抗 HSV 抗体で染色した。また腫瘍周

困、腫瘍内部のリンパ球を検討するため、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、マクロファージを示す抗 CD4 抗体、抗 CD8 抗体、抗 F4/80 抗体で免疫染色を行った。また、PD-1/PD-L1 経路の活性化を検討するため、抗 PD-1 抗体と抗 PD-L1 抗体で免疫染色を行った。最後に腫瘍の性質を検討するため扁平上皮由来を示す抗 p63 抗体で染色した。

2) 脾細胞の組成

全身性免疫を評価するために、耳介切除の際に切除した脾臓でリンパ球の組成を検討した。脾細胞を分離し、その一部を各種白血球抗原で染色し、フローサイトメトリーで解析した。

3) 腫瘍特異的な抗腫瘍免疫の検討

腫瘍特異的な免疫の誘導を検討するため、脾細胞の一部と腫瘍細胞を混合培養し、24 時間後、72 時間後に上清を採取した。ELISA を用いて上清中に誘導された抗腫瘍サイトカイン IFN- γ 、TNF- α を測定した。

3. 研究結果

1) 組織学的検討

HF10 接種群において、HF10 感染細胞を中心とした領域に壊死を認めた。腫瘍内のリンパ球を検討したところ、HF10 感染細胞を中心とした領域に CD8 陽性細胞の浸潤を認めた。しかし、CD4 陽性細胞、F4/80 陽性細胞は認めなかった。腫瘍周囲の間質にも CD8 陽性細胞を認めたが、CD4 陽性細胞、F4/80 陽性細胞は認めなかった。

腫瘍塊に、p63 陽性細胞、PD-1 陽性細胞、PD-L1 陽性細胞は認めなかった。

2) 脾細胞の組成

脾細胞に占めるリンパ球を検討したところ、HF10 接種群で CD8 陽性 T 細胞、Gr-1 陽性 CD11b 陰性顆粒球の有意な増多を認めた。CD4 陽性 T 細胞の増多もみとめたが、HF10 接種群で有意な変化を認めなかった。

3) 腫瘍特異的な抗腫瘍免疫の検討

HF10 治療群の脾細胞は腫瘍細胞 SCC-VII の刺激で 24 時間後に抗腫瘍サイトカイン IFN- γ 、TNF- α を分泌した。72 時間後では両者とも減少したが、HF10 治療群で有意に多く認められた。

4. 考察

マウス扁平上皮癌細胞株 SCC-VII で耳介腫瘍を作成し、HF10 を 2 回接種したところ、有意な腫瘍縮小効果と生存延長効果を認めた。HF10 感染領域には壊死が認められ、CD8 陽性 T 細胞の浸潤が認められた。また脾細胞にも CD8 陽性 T 細胞の増多が認められ、HF10 治療により CD8 陽性 T 細胞が誘導されたと考えられた。

HF10 治療により生き残ったマウスに SCC-VII を皮下に接種したが皮下腫瘍の形成は認められなかった。腫瘍特異的な抗腫瘍免疫の誘導が示唆されたが、脾細胞を腫瘍細胞で刺激したところ抗腫瘍サイトカイン IFN- γ 、TNF- α の分泌が認められ、HF10 治療により腫瘍特異的な抗腫瘍免疫が誘導されたと考えられた。

腫瘍溶解ウイルスによる免疫応答の変化は癌腫や報告によりわかるが、過去の我々の報告 [1, 2] と同様に、腫瘍細胞特異的な抗腫瘍免疫が誘導されている。本研究は以上の所見をまとめて論文にて発表予定であるが、腫瘍溶解ウイルスにより誘導される抗腫瘍免疫の報告は少ない。今後研究をさらにすすめることが、HF10 だけでなく抗腫瘍ウイルスの臨床応用をすすめ、がん治療の新たな治療選択肢として確立できると考えている。

5. 文献

- 1) Esaki S, Goshima F, Kimura H, Murakami S, Nishiyama Y. Enhanced antitumoral activity of oncolytic herpes simplex virus with gemcitabine using Bilateral Tumor Models. *Int J Cancer*. 132: 1592-601. 2012.
- 2) Goshima F, Esaki S, Luo CH, Kamakura M, Kimura H, Nishiyama Y. Oncolytic viral therapy with a combination of HF10, a herpes simplex virus type 1 variant, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for murine ovarian cancer. *Int J Cancer*. 134: 2865-77. 2014

6. 論文発表

学会

第 77 回日本癌学会学術総会 9 月 27-29 日 大阪市

論文 (投稿中)

Esaki S. et al. Oncolytic activity of HF10 in head and neck squamous cell carcinomas.