

腫瘍溶解ウイルスと化学療法剤の併用による 唾液腺癌への新規治療法の開発

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

悪性腫瘍の治療にウイルスを利用するという研究は 1950 年代より行われてきた。近年のウイルスの機能解析と遺伝子工学技術の進歩により、ウイルスの正常組織に対する病原性を排除し、癌細胞特異的に増殖し、破壊するような治療が可能になってきた。現在では腫瘍溶解ウイルス療法 (Oncolytic Virotherapy) とよばれ、様々なウイルスが前臨床的研究、臨床治験に用いられている。HF10 は名古屋大学医学部ウイルス学教室でクローニングされた自然発生型の弱毒型単純ヘルペスウイルスであるが、申請者の研究グループは HF10 の抗腫瘍ウイルスとして優れた特性について報告してきた。

ところで、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り、唾液腺癌の頻度は低い。唾液腺癌に対して有効である治療法は手術療法のみであり、化学療法、放射線療法の効果は十分ではない。そこで新たな治療法の開発が求められているが、唾液腺癌は稀少疾患である上に組織系が多彩であり、新規治療法への研究が進んでいないのが現状である。そこで本研究では、唾液腺癌に対する新規治療法の開発を目的として、唾液腺癌への腫瘍溶解ウイルス療法の抗腫瘍効果を検討した。また、化学療法と併用して抗腫瘍効果が増強されるかどうかの検討を行った。

2. 研究の対象ならびに方法

1) 唾液腺癌細胞の準備

細胞はマウス顎下腺癌細胞株である WR21、SCA9、ヒト顎下腺癌細胞株である A253、顎下腺導管癌由来の初代培養細胞株 NSDC-5F、顎下腺腺癌 NOS 由来の初代培養細胞株 NAC-17F を用いた。コントロールとしてヒト咽頭癌細胞株である FaDu を用いた。

2) HF10 による殺細胞効果と 5-FU、シスプラチンによる殺細胞効果

96 well plate に各細胞を撒き、翌日に HF10、5-FU、シスプラチンを異なる濃度（力価）で処理し、48 時間後に各々の殺細胞効果を MTS にて検討した。

3) 5-FU 前処理後の HF10 の増殖能

5-FU で 20 時間処理し、通常培養液で 2 時間培養した細胞に HF10 を MOI3 で感染させ、HF10 による細胞変性効果、HF10 の増殖能を検討した。各々につき、5-FU で処理していない細胞に HF10 を MOI3 で感染させ、比較検討した。

4) マウス耳下腺腫瘍モデルにおける TS-1 と HF10 の併用療法の検討

6 週齢の雌ヌードマウス (Balb/c nu/nu) の耳下腺内に A253 株を接種して耳下腺腫瘍モデルマウスを作成した。腫瘍が 2mm 大となる 6 日後より 3 日連続で TS-1 を口腔内から投与した。TS-1 の最終投与から 2 日後に HF10 を腫瘍内に接種し、耳下腺腫瘍の大きさを検討した。また体重増減と副作用の有無を検討した。耳下腺腫瘍が 1.5cm を超えたら sacrifice した。

5) マウス耳下腺腫瘍モデルにおける TS-1 と HF10 の併用療法の組織学的検討

上記のプロトコールで TS-1、HF10 を投与し、HF10 投与の 24 時間後に耳下腺腫瘍を採取して切片を作成し、組織学的検討を行った。

3. 研究結果

1) 唾液腺癌細胞の準備

マウス顎下腺癌細胞株の WR21、SCA9、ヒト顎下腺癌の A253、NSDC-5F、NAC-17F に HF10 を感染させたところ、ウイルス力価 (MOI) 依存的な抗腫瘍効果を認めた。またシスプラチン、5-FU を投与したところ、濃度依存的な殺細胞効果を認めた。これらの殺細胞効果は咽頭癌 FaDu と比べると弱く、とくに A253 では比較的抵抗性を示した。

2) HF10 による殺細胞効果と 5-FU、シスプラチンによる殺細胞効果

そこで、A253 細胞を 5-FU で 20 時間処理し、通常培養液で 2 時間培養した細胞に HF10 を MOI3 で感染させ、HF10 による細胞変性効果、HF10 の増殖能を検討した。5-FU で処理していない細胞と比較すると HF10 の細胞変性効果 (CPE) の増強と、増殖亢進を認めた。

4) マウス耳下腺腫瘍モデルにおける TS-1 と HF10 の併用療法の検討

A253 で耳下腺腫瘍モデルマウスを作成したところ、TS-1、HF10 の単独投与で一定の腫瘍抑制効果と生存延長促進効果を認めた。しかし併用療法では著しい腫瘍抑制効果と生存延長促進効果を認めた。各治療中に明らかな体重減少や副作用の発現は認めなかった。

5) マウス耳下腺腫瘍モデルにおける TS-1 と HF10 の併用療法の組織学的検討

耳下腺腫瘍では HF10 を感染させたところ、壊死した領域に HSV-1 抗原の発現を認めた。TS-1 と HF10 を併用した群でも壊死した領域に HSV-1 抗原の発現を認めたが、その領域が著名であった。

4. 考察

臨床の場合において、唾液腺癌は頭頸部扁平上皮癌と比べて化学療法、放射線療法の効果に乏しい印象があるが、細胞株を用いた検討でも唾液腺癌細胞株は HF10、シスプラチン、5-FU にやや抵抗性を示した。HF10 の抗腫瘍効果を高める候補として 5-FU を考慮にいたしたが、抗腫瘍ヘルペスウイルスは DNA ウィルスであるため、5-FU と同時に投与するとウィルスの増殖も阻害することが知られている。そこで、5-FU で前処置を行い、取り除いてから HF10 を投与したところ、抗腫瘍効果の増強を認めた。

その結果を基に耳下腺腫瘍マウスモデルにおいて 5-FU と HF10 の併用療法を検討した。5-FU の体内半減期は短いため、そのプロドラッグである TS-1 を用いた。TS-1 で前処置を行った後に HF10 を腫瘍内に接種したところ、著明な抗腫瘍効果を認めた。また組織学的にもその抗腫瘍効果が確認された。

以上の結果より、5-FU と HF10 を投与することにより抗腫瘍効果が増強されることが細胞株、マウスモデルで確認された。その理由として、現在様々なシグナル蛋白の発現を検討している。

5. 論文発表

国際学会

Esaki S. et al: Combination therapy with HF10 and S-1 for salivary gland carcinoma.
12th International Oncolytic Virotherapy Conference, Rochester, MN, 2019.