

## 論文の要旨

申請者 田 中 雄 也

### 研究論文題目

頭頸部扁平上皮癌における頸部リンパ節転移・遠隔転移に対する uPA 活性依存的腫瘍溶解性センダイウイルスによる新規治療法の検討

### 1 目 的

頭頸部扁平上皮癌は、近年化学療法、放射線療法および手術療法を組み合わせた集学的治療による標準療法の進歩により局所制御率の向上が得られつつあるが、未だ5年生存率が50-60%と予後不良な疾患である。頭頸部癌の予後を左右する因子として、頸部リンパ節転移と遠隔転移は頭頸部癌患者の重要な予後因子であり、頭頸部扁平上皮癌の転移の制御は喫緊の課題である。

細胞外基質を分解するウロキナーゼ型プラスミノゲン活性化因子 (uPA) は、悪性腫瘍に特異的に発現しており、腫瘍の増殖、浸潤、転移に関与している。発現強度は癌の悪性度と相関があり、頭頸部癌でも高発現している。これまでセンダイウイルスを遺伝子改変し、癌特異的な uPA 活性依存的に細胞膜融合を誘導する腫瘍溶解性センダイウイルス「BioKnife」が開発され、様々な癌腫に対する抗腫瘍効果が報告されている。

今回我々は、BioKnife による頸部リンパ節転移および擬似遠隔転移に対する抗腫瘍効果について検討する。

### 2 対象並びに方法

頸部リンパ節転移に対する BioKnife の治療効果を検討するため、*in vitro* と *in vivo* の実験に分けて行った。*in vitro* の実験では、様々な扁平上皮癌細胞株の uPA 活性測定や高率に頸部リンパ節に転移するヒト舌癌細胞株 HSC-3-M3 に対するウイルスの殺細胞効果および経時的観察を行った。*in vivo* 実験では、舌癌頸部リンパ節転移マウスモデルを確立し、頸部リンパ節へのウイルスの移行および頸部リンパ節転移に対する抗腫瘍効果、またその抗腫瘍メカニズムについて検討した。

遠隔転移に対する BioKnife の治療効果を検討するため、*in vitro* と *in vivo* の実験に分けて行った。*in vitro* の実験では、マウス由来の扁平上皮癌細胞株 SCCVII に対するウイルスの殺細胞効果や経時的観察を行った。*in vivo* 実験では、頭頸部扁平上皮癌擬似転移マウスモデルを確立し、擬似転移巣に対するウイルスの抗腫瘍効果、またその抗腫瘍メカニズムについて検討した。

### 3 成 績

uPA 活性は、HSC-3-M3 が他の扁平上皮癌細胞株と比較し、一番高値であった。HSC-3-M3 に対する BioKnife の殺細胞効果は、コントロールウイルスと比較し有意に高く、力価依存的であった。経時的観察では、細胞膜融合を引き起こし、細胞死を誘導していた。舌癌頸部リンパ節転移マウスモデルでは、BioKnife を原発巣に注入することにより頸部リンパ節へ移行し、頸部リンパ節転移を抑制することが示された。また、ウイルス感染した頸部リンパ節転移内でアポトーシスの誘導を検出した。

SCCVII に対する BioKnife の殺細胞効果については、SCCVII が他の扁平上皮癌細胞株と比較し一番 uPA 活性が低かったので、連続投与による殺細胞効果を検討した。4 日連続投与で力価依存的に有意な殺細胞効果を示し、経時的観察では細胞膜融合を引き起こし、細胞死を誘導していた。頭頸部扁平上皮癌擬似転移マウスモデルでは、BioKnife を原発巣に注入することにより、擬似転移巣の抑制効果を認めた。細胞傷害性 T 細胞アッセイでは BioKnife 投与群で有意にエフェクター細胞の殺細胞効果を認めた。脾臓におけるフローサイトメトリー解析では、ウイルス投与による免疫担当細胞の誘導を認め、擬似転移巣内で CD8 細胞の浸潤を認めた。

### 4 考 察

本研究により、BioKnife は原発巣に対する治療効果のみならず、頸部リンパ節転移や遠隔転移を標的とした治療も可能であることが示された。

早期の頭頸部癌患者に対しては、BioKnife 単独投与による原発巣の制御や頸部リンパ節転移の予防、頸部リンパ節における微小転移の制御が期待できる。また、低侵襲手術により原発巣を切除した後に頸部リンパ節転移の予防や治療のために切除部に BioKnife を投与することも有効だろう。

進行期の頭頸部癌患者に対しては、BioKnife をがん化学療法や分子標的薬、免疫チェックポイント阻害薬やがんワクチンを含めた免疫療法と併用することにより、それぞれ抗腫瘍メカニズムが異なるため、生存期間の延長を期待することができる。また、BioKnife に免疫刺激因子を搭載することによって、より強力な抗腫瘍免疫を誘導することも期待される。

### 5 結 論

BioKnife による腫瘍溶解性ウイルス療法は、頭頸部癌治療の低侵襲化を実現し、患者の QOL 向上のみならず、予後向上を目指した新たな治療戦略を展開できるものと考えている。本研究は、臨床応用が容易な手法を用いており、ウイルスの安全性も高いことから、BioKnife の臨床応用が期待され、新たな頭頸部癌低侵襲治療の礎となると考えている。