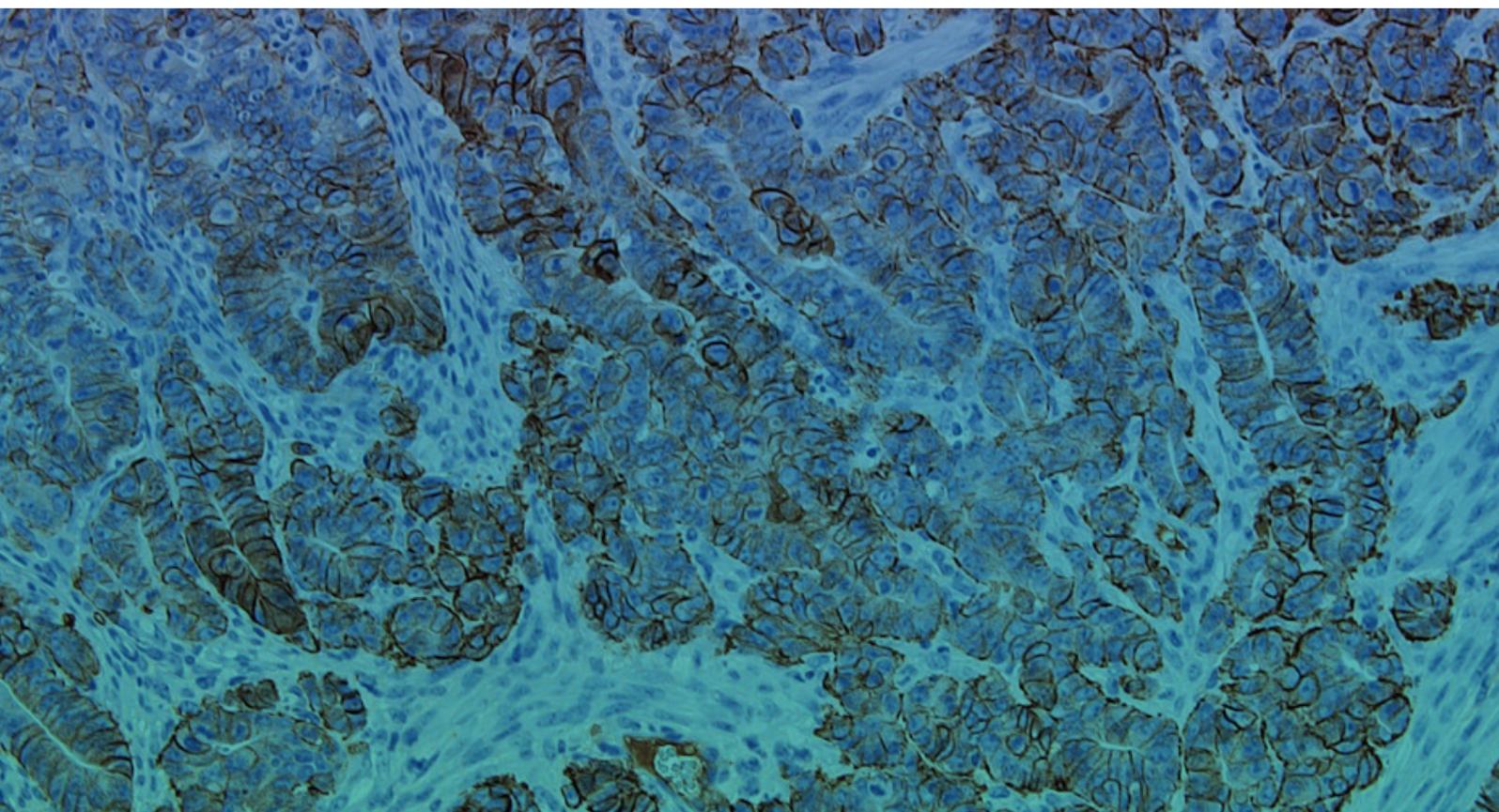


第38回 Wako ワークショップ

# シン・がん医療：新技術に 裏打ちされたがんの基礎と臨床

## 講演要旨集



**2023年 11月22日(水)**

開催場所／秋葉原コンベンションホール＋ウェビナー(ハイブリッド開催)

〒101-0021 東京都千代田区外神田1丁目18-13 秋葉原ダイビル 2F

主催 富士フイルム 和光純薬株式会社

表紙の写真：

マウス卵巣がんモデルに抗がん剤カルボプラチンを投与後に濃縮してきた CD44v 陽性がん幹細胞

佐谷 秀行 先生 ご提供

(藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター・橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長)

第38回 Wako ワークショップ

# シン・がん医療：新技術に 裏打ちされたがんの基礎と臨床

---

## 講演要旨集

2023年11月22日(水)

開催場所：秋葉原コンベンションホール＋ウェビナー

富士フイルム 和光純薬株式会社



# プログラム

10:00～	<b>開会挨拶</b> (富士フィルム和光純薬株式会社)	
10:05～10:20	<b>はじめに</b> (本日のオーバービューを含む) …………… 佐谷 秀行 (藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター・ 橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長)	
<b>セッションⅠ 新技術による血液・免疫系解析の進歩</b> 座長/玉田 耕治, 井上 大地		
10:20～11:05	<b>固形がんに対する CAR-T 細胞療法の進展と将来展望</b> …………… 玉田 耕治 (山口大学大学院 医学系研究科 免疫学講座 教授)	4
11:05～11:50	<b>血液研究が拓くがん研究の未来</b> …………… 井上 大地 (公益財団法人 神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部 部長)	6
11:50～13:00	(昼 食)	
<b>セッションⅡ ゲノム解析の新展開</b> 座長/藤堂 具紀, 永野 修		
13:00～13:45	<b>リキッドバイオプシー最前線～最新技術から臨床実装まで～</b> …………… 藤澤 孝夫 (国立がん研究センター東病院 TR 支援室/頭頸部内科)	10
13:45～14:30	<b>ロングリードシーケンサーを用いた 新たながんエピゲノム異常の解明</b> …………… 永江 玄太 (東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス&メディシン分野 特任准教授)	12
14:30～14:45	(コーヒーブレイク)	
<b>セッションⅢ 難治性がんへの挑戦</b> 座長/藤澤 孝夫, 永江 玄太		
14:45～15:30	<b>がんのフェロトーシス回避機構と新規治療法の開発</b> …………… 永野 修 (藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター 遺伝子制御研究部門 教授)	15
15:30～16:15	<b>がんのウイルス療法の臨床開発と実用化</b> …………… 藤堂 具紀 (東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 先端がん治療分野 教授)	18
16:15～16:40	<b>おわりに</b> …………… 佐谷 秀行 (藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター・ 橋渡し研究シーズ探索センター 特命教授・センター長)	
16:40～	<b>閉会挨拶</b> (富士フィルム和光純薬株式会社)	

## 固形がんに対する CAR-T 細胞療法の進展と将来展望

玉田 耕治

山口大学大学院 医学系研究科 免疫学講座

### はじめに

血液悪性腫瘍に対する CAR-T 細胞療法は強力な治療効果を示し、この治療法の臨床応用につながった。一方、固形がんに対する CAR-T 細胞療法では、臨床的有効性を示した例外的な症例がいくつか報告されているものの、まだ十分に臨床応用できる段階まで発展していない。固形がんにおける CAR-T 細胞療法の効果に対する潜在的なハードルとして、腫瘍に発現するターゲットの不均一性、CAR-T 細胞および内在性免疫細胞の腫瘍組織への移動・浸潤の不十分さ、腫瘍微小環境の免疫抑制メカニズムなどが挙げられる。これらのハードルを克服するために、我々は、CAR-T 細胞がインターロイキン-7 (IL-7) と CCL19 の両方を産生することを可能にする新規 CAR 技術を開発し、投与された CAR-T 細胞と宿主免疫細胞が腫瘍組織内に効率的に集積して増殖することで、様々な固形がんマウスモデルにおいて強力な治療効果を示すことを報告してきた<sup>1-3)</sup>。

### 本論

我々が開発した IL-7/CCL19 産生 CAR-T (7×19 CAR-T) 細胞療法について、固形がんにおける有効性に関する免疫学的メカニズムを解析した。内在性腫瘍抗原と CAR 標的抗原の両方を発現するマウス腫瘍細胞株を用い、7×19 CAR-T 細胞を担がんマウスに投与することで、宿主由来の樹状細胞による cross presentation を介して内在性腫瘍抗原への epitope spreading が誘導されるかどうかを検討した。その結果、OVA と CAR ターゲットを発現する B16F10メラノーマ細胞を皮下接種したマウスにおいて、7×19 CAR-T 細胞の静脈内投与は OVA と

TRP-1、TRP-2、gp100 を含む内因性メラノーマ抗原に対する T 細胞応答を誘導した。また、CAR 標的を発現する MC38 大腸がん細胞を用いた別のモデルでは、7×19 CAR-T 細胞を投与することにより、Dpagt1、Adpgk、REPS1 などの MC38 由来ネオアンチゲンに対する T 細胞応答が誘導された。OVA 発現 B16F10 モデルでは、7×19 CAR-T 細胞の投与により CD11b 陰性、CD8  $\alpha$  陽性の樹状細胞の数が増加した。さらに、これらのマウスから採取した樹状細胞は、新たに OVA 抗原を添加することなく、OVA 特異的 OT-1 T 細胞の活性化を誘導したことから、内在性腫瘍抗原を cross presentation していることが示唆された。また、CAR 標的陽性 B16F10 と陰性 B16F10 を混合した腫瘍細胞を接種したマウスは、7×19 CAR-T 細胞により生存期間の延長が得られたが、この効果は従来の CAR-T 細胞による治療では認められなかった。同様の結果が、CAR 標的陽性および陰性 3LL 肺がん細胞の混合物を用いたモデルでも観察された。これらの結果により、7×19 CAR-T 細胞治療により内因性腫瘍抗原への epitope spreading が誘導され、CAR 標的陰性腫瘍が混在している腫瘍に対する治療効果につながることを示唆された。

### まとめ

今回の研究成果は、7×19 CAR-T 細胞による固形がんに対する治療過程において、epitope spreading が誘導され、そのことが抗腫瘍効果につながることを立証した。さらに、この反応は epitope spreading 誘導の重要なメカニズムである T 細胞への cross presentation 能力を有する DC の増加と関連していることが示された。7×19 CAR-T 細胞のこのような特性は、抗原の不均一性が高い固形がんや CAR ター

ゲットの消失や低下による腫瘍再発に対して強力な対抗手段となりうると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Adachi, K., Kano, Y., Nagai, T., Okuyama, N., Sakoda, Y. and Tamada, K. : "IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor." *Nat. Biotechnol.*, Apr ; **36** (4), 346-351 (2018). : doi : 10.1038/nbt.4086. Epub 2018 Mar 5.
- 2) Goto, S., Sakoda, Y., Adachi, K., Sekido, Y., Yano, S., Eto, M. and Tamada, K. : "Enhanced anti-tumor efficacy of IL-7/CCL19-producing human CAR-T cells in orthotopic and patient-derived xenograft tumor models." *Cancer Immunol. Immunother.*, Sep ; **70** (9), 2503-2515 (2021). : doi : 10.1007/s00262-021-02853-3. Epub 2021 Feb 8.
- 3) Sasaki, T., Sakoda, Y., Adachi, K., Tokunaga, Y. and Tamada, K. : "Therapeutic effects of anti-GM2 CAR-T cells expressing IL-7 and CCL19 for GM2-positive solid cancer in xenograft model." *Cancer Med.*, Jun ; **12** (11), 12569-12580 (2023). : doi : 10.1002/cam4.5907. Epub 2023 Apr 9.

## 血液研究が拓くがん研究の未来

井上 大地

神戸医療産業都市推進機構 先端医療研究センター 血液・腫瘍研究部

### はじめに

発がんにおいて重要とされる遺伝子の発現は、これまでコード領域のDNA変異や転写調節機構の異常を中心に研究が進んできた。しかし近年、遺伝情報は転写後RNAレベルでも様々な制御を受けることが明らかとなり、pre-mRNAからイントロンを除去し成熟mRNAを産生するスプライシングの異常と発がんとの関連も数多く報告されている。特に血液がんを中心にスプライシングを制御する遺伝子変異や発現異常ががん横断的に観察されている。これらにより生じる様々な下流スプライシング標的の中で、機能的に重要な標的を選び出すスクリーニング手法の開発やそれらに基づく治療応用について、我々は歩を進めてきた。また、内的制御機構とは別の視点からは、単一細胞レベルでの高解像度な解析手法を用いて、クローン性造血細胞がもたらす臓器連関をとらえてきた。これらの造血システム破綻の統合的理解を土台として、様々な生命現象のクロススケールな理解に向けてどのような未来が期待されるのか議論したい。

### 本論

造血の場となる骨髄ではエレガントな多細胞システムの下、造血幹細胞を頂点として成熟造血細胞を質的・量的に担保する制御システムが構築され、その破綻が骨髄異形成症候群（MDS）や白血病などの疾患発症につながっている。造血幹細胞には遺伝子発現制御を中心とした細胞自律的な内的制御機構の他に、間葉系幹細胞や血管内皮細胞など多彩な骨髄ニッチ（微小環境）とのネットワークを介した外的制御機構が存在する。前者の破綻には、ゲノム変異の他にもRNAスプライシングなどの転写後制御機構の異常などが含

まれ、これまでの研究で、その下流にあるスプライシング異常標的を捉えてきた（図1）。2011年、MDSを中心とする骨髄系腫瘍において、スプライソソームの構成因子をコードする遺伝子群の変異が高頻度かつ相互排他的に検出されることが報告され<sup>1)</sup>、これらの変異は大多数のイントロンのスプライシングに関わるSF3B1、SRSF2、U2AF1と、全イントロンの0.3%のみを占めるマイナーイントロンのスプライシングに関わるZRSR2に集中している<sup>2)</sup>。それぞれの変異を有する大規模な患者mRNA解析による異常スプライシング産物の同定と、その情報を元にしたCRISPRスクリーニングによって、発がんに直接的に寄与する異常の同定を行ってきた<sup>2,3)</sup>。この中には、クロマチンリモデリング分子BRD9<sup>3)</sup>や転写因子EVI1<sup>4)</sup>などが含まれ、スプライシングという転写後RNAレベルでの制御機構が、セントラルドグマを遡り転写その

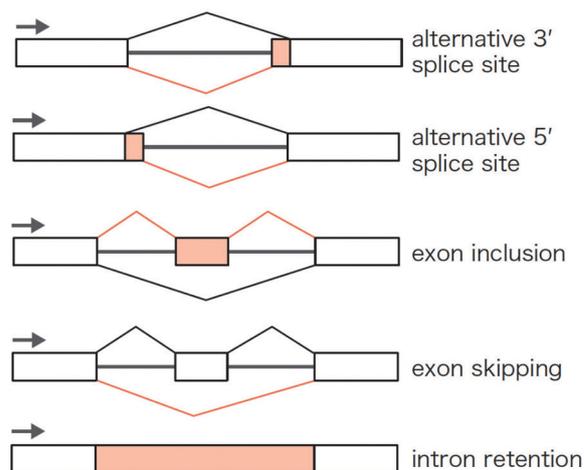


図1. スプライシング異常のパターン  
がん細胞で観察されるスプライシング異常。多くの場合、早期終始コドンによってNMD (Nonsense-mediated RNA decay) の機序で分解されるが (~70%)、一部 EVI1 のようにインフレームでアミノ酸が挿入され全く新しい未知のバリエーションが生じることがある。

ものを制御している現象を見出した。またマイナーイントロンを含有する遺伝子を対象にした CRISPR スクリーニングによって (図 2)、RAS 経路を負に制御する LZTR1 のスプライシング異常による機能喪失など、未知の RAS 活性化経路も新たに同定している (図 3)<sup>2)</sup>。これらのスプライシングに基づく制御機構の探索は、造血幹細胞の分化運命制御、幹細胞性、腫瘍化、シグナル伝達経路のより深い病態理解や、新規ゲノム変異の同定、イントロン変異・多型の意義など、新たな成果につながっている。このようなスプライシング研究を始点として得られた成果は、合成致死

標的など全く新しい視点での創薬開発にも大きく貢献している。

また、後者の骨髄ニッチとの関係性においてはクローン性造血幹細胞が骨髄ニッチ細胞である間葉系幹細胞 (MSC) の骨への分化を抑制することで、正常造血をサポートする機能を減弱させ、結果として自身の生存を担保しながら骨粗鬆症を引き起こすことを報告した<sup>5)</sup>。この現象には、クローン性造血幹細胞由来のエクソソームを介した間葉系幹細胞の改変機構が不可欠である。テクノロジーの観点からは、単一細胞レベルでの RNA/ATAC-seq 解析の発展により、多細

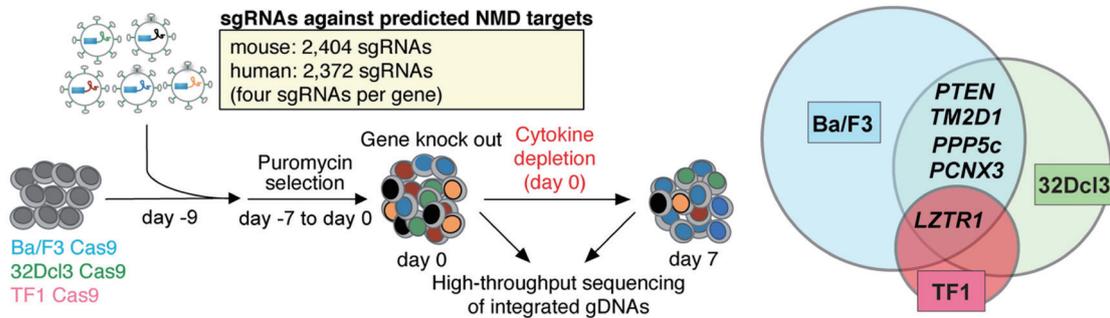


図 2. スプライシング標的の中で機能的に重要な NMD 標的を探索する CRISPR スクリーニング  
 ここではマイナーイントロン含有遺伝子に対してカスタム sgRNA ライブラリーを作成し、3つの細胞株のサイトカイン非依存性に貢献する NMD 標的を同定するスクリーニング手法を考案した。

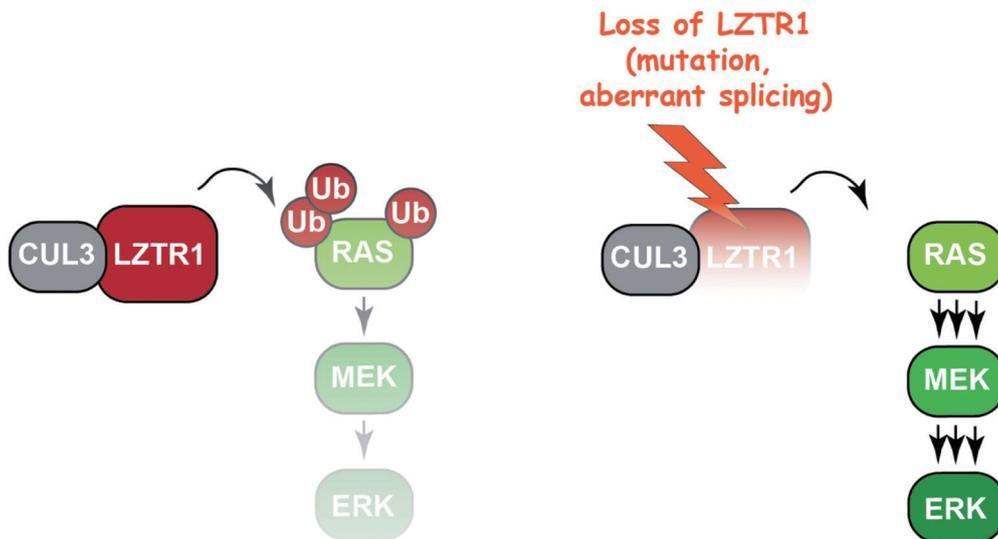


図 3. LZTR1 のスプライシング異常による新規 RAS 活性化経路の同定  
 LZTR1 は CUL3 のアダプタータンパクとして RAS のユビキチン化や分解に寄与している。LZTR1 の機能喪失型変異だけでなく、スプライシング異常による発現低下によって RAS 経路が活性化する新規経路を同定した。

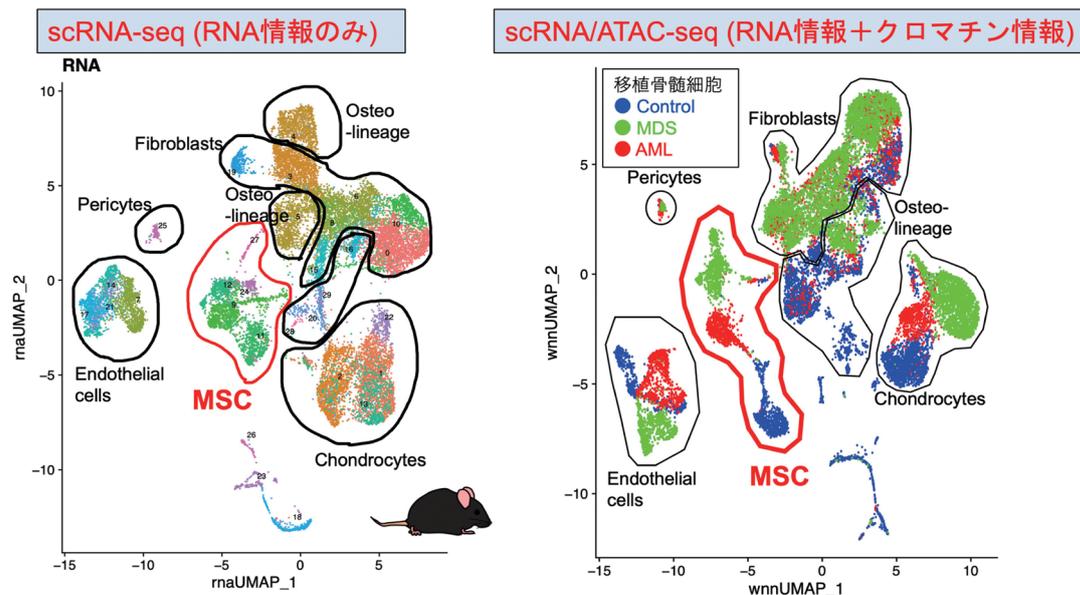


図 4. scRNA/ATAC マルチオーム解析の有用性  
造血細胞の主導によって骨髄ニッチ環境は改変される。MDS (骨髄異形成症候群) や AML (急性骨髄性白血病) 細胞を移植したマウスモデルでニッチ環境が改変される様子を、scRNA-seq と scRNA/ATAC-seq 情報を元に次元圧縮・クラスタリングを行った。例えば MSC において、クロマチン情報の付加によって、疾患に伴う変化が鮮やかに描出されており、今後のニッチ細胞の理解がさらに加速することが期待される。

胞システムの理解に向けた解像度が飛躍的に向上しつつある。ゲノムワイドにオープンクロマチンを評価できる ATAC 情報を細胞ごとに付与することで、腫瘍によって変容する骨髄ニッチ細胞の特色を詳細に捉えることに成功している (図 4)。例えば、造血サポート因子である CXCL12 の未知のエンハンサー領域の同定や、間葉系幹細胞の分化プログラムの変遷など今後の腫瘍生物学につながる成果を見出している。

## まとめ

近年、RNA スプライシング以外にも RNA メチル化や RNA 輸送など、転写後 RNA レベルでの制御機構の破綻が発がんを誘導することが報告され<sup>6)</sup>、メカニズムに基づいた創薬開発が進んでいる。また、scRNA/ATAC-seq のような単一細胞レベルでの疾患理解も進み、従来の研究手法の解像度では得られなかった制御機構の同定が造血異常との臓器連関の分野でも続いていくと予想される。今後、転写やクロマチンという古くて新しい領域を掘り下げることで、新たな腫瘍生物学や解析手法の発展を基盤として、がん横断的に新規治療応用へとつながるものと期待される。

## 参考文献

- 1) Yoshida, K, Sanada, M, Shiraishi, Y, Nowak, D, Nagata, Y, Yamamoto, R, Sato, Y, Sato-Otsubo, A, Kon, A, Nagasaki, M, Chalkidis, G, Suzuki, Y, Shiosaka, M, Kawahata, R, Yamaguchi, T, Otsu, M, Obara, N, Sakata-Yanagimoto, M, Ishiyama, K, Mori, H, Nolte, F, Hofmann, W.K, Miyawaki, S, Sugano, S, Haferlach, C, Koefler, H.P, Shih, L.Y, Haferlach, T, Chiba, S, Nakauchi, H, Miyano, S and Ogawa, S. : "Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia." *Nature*, Sep 11 ; **478** (7367) : 64-69 (2011). : doi : 10.1038/nature10496. PMID : 21909114.
- 2) Inoue, D, Polaski, J.T, Taylor, J, Castel, P, Chen, S, Kobayashi, S, Hogg, S.J, Hayashi, Y, Pineda, J.M.B, El Marabti, E, Erickson, C, Knorr, K, Fukumoto, M, Yamazaki, H, Tanaka, A, Fukui, C, Lu, S.X, Durham, B.H, Liu, B, Wang, E, Mehta, S, Zakheim, D, Garippa, R, Penson, A, Chew, G.L, McCormick, F, Bradley, R.K and Abdel-Wahab, O. : "Minor intron retention drives clonal hematopoietic disorders and diverse cancer predisposition." *Nat. Genet.*, May ; **53** (5) : 707-718 (2021). : doi : 10.1038/s41588-021-00828-9. Epub 2021 Apr 12. PMID : 33846634 ; PMCID : PMC8177065.
- 3) Inoue, D, Chew, G.L, Liu, B, Michel, B.C, Pangallo, J, D'Avino, A.R, Hitchman, T, North, K, Lee, S.C, Bitner, L, Block, A, Moore, A.R, Yoshimi, A, Escobar-Hoyos, L, Cho, H, Penson, A, Lu, S.X, Taylor, J, Chen, Y, Kadoch, C, Abdel-Wahab, O and Bradley, R.K. : "Spliceosomal disruption of the non-canonical BAF complex in cancer." *Nature*, Oct ; **574** (7778) : 432-436 (2019). : doi : 10.1038/s41586-019-1646-9. Epub 2019 Oct 9. PMID : 31597964 ; PMCID : PMC6858563.
- 4) Tanaka, A, Nakano, T.A, Nomura, M, Yamazaki, H, Bewersdorf, J.P, Mulet-Lazaro, R, Hogg, S, Liu, B, Penson, A,

- Yokoyama, A., Zang, W., Havermans, M., Koizumi, M., Hayashi, Y., Cho, H., Kanai, A., Lee, S.C., Xiao, M., Koike, Y., Zhang, Y., Fukumoto, M., Aoyama, Y., Konuma, T., Kunimoto, H., Inaba, T., Nakajima, H., Honda, H., Kawamoto, H., Delwel, R., Abdel-Wahab, O. and Inoue, D. : "Aberrant EVI1 splicing contributes to EVI1-rearranged leukemia." *Blood*, Aug 25 ; **140** (8) : 875-888 (2022). : doi : 10.1182/blood.2021015325. PMID : 35709354 ; PMCID : PMC9412007.
- 5) Hayashi, Y., Kawabata, K.C., Tanaka, Y., Uehara, Y., Mabuchi, Y., Murakami, K., Nishiyama, A., Kiryu, S., Yoshioka, Y., Ota, Y., Sugiyama, T., Mikami, K., Tamura, M., Fukushima, T., Asada, S., Takeda, R., Kunisaki, Y., Fukuyama, T., Yokoyama, K., Uchida, T., Hagihara, M., Ohno, N., Usuki, K., Tojo, A., Katayama, Y., Goyama, S., Arai, F., Tamura, T., Nagasawa, T., Ochiya, T., Inoue, D. and Kitamura, T. : "MDS cells impair osteolineage differentiation of MSCs via extracellular vesicles to suppress normal hematopoiesis." *Cell Rep.*, May 10 ; **39** (6) : 110805 (2022). doi : 10.1016/j.celrep.2022.110805. PMID : 35545056.
- 6) Yankova, E., Blackaby, W., Albertella, M., Rak, J., De Braekeleer, E., Tsagkogeorga, G., Pilka, E.S., Aspris, D., Leggate, D., Hendrick, A.G., Webster, N.A., Andrews, B., Fosbeary, R., Guest, P., Irigoyen, N., Eleftheriou, M., Gozdecka, M., Dias, J.M.L., Bannister, A.J., Vick, B., Jeremias, I., Vassiliou, G.S., Rausch, O., Tzelepis, K. and Kouzarides, T. : "Small-molecule inhibition of METTL3 as a strategy against myeloid leukaemia." *Nature*, May ; **593** (7860) : 597-601 (2021). : doi : 10.1038/s41586-021-03536-w. Epub 2021 Apr 26. PMID : 33902106 ; PMCID : PMC7613134.
- 7) Han, L., Dong, L., Leung, K., Zhao, Z., Li, Y., Gao, L., Chen, Z., Xue, J., Qing, Y., Li, W., Pokharel, S.P., Gao, M., Chen, M., Shen, C., Tan, B., Small, A., Wang, K., Zhang, Z., Qin, X., Yang, L., Wunderlich, M., Zhang, B., Mulloy, J.C., Marcucci, G., Chen, C.W., Wei, M., Su, R., Chen, J. and Deng, X. : "METTL16 drives leukemogenesis and leukemia stem cell self-renewal by reprogramming BCAA metabolism." *Cell Stem Cell*, Jan 5 ; **30** (1) : 52-68.e13 (2023). doi : 10.1016/j.stem.2022.12.006. PMID : 36608679 ; PMCID : PMC9838187.

## リキッドバイオプシー最前線～最新技術から臨床実装まで～

藤澤 孝夫

国立がん研究センター東病院 TR 支援室 / 頭頸部内科

### はじめに

近年、次世代型シーケンサー (Next Generation Sequencing : NGS) を始めとした分子生物学的解析 (分子プロファイリング) の発展に伴い、がん治療においても特定の遺伝子異常などの症例固有の分子異常 (分子プロファイル) に基づいた治療を行うがん精密医療 (Precision Oncology) が急速に発展している。我々も本邦での Precision Oncology の臨床実装のため、2015年より産学連携全国がんゲノムスクリーニング事業 SCRUM-Japan を実施している<sup>1)</sup>。

一方、腫瘍組織を用いた分子プロファイリング解析には、腫瘍組織の採取に伴う侵襲 (採取に伴う出血などの合併症)、Turnaround Time の問題 (結果返却まで時間を要すること)、時空間的不均一性の問題 (採取した病変以外の部位について評価できないことや、採取から時間が経過した場合に変化した性質が捉えられないこと) などの問題が存在する。これらを解決する方法として、血液などの液性検体を用いたリキッドバイオプシー技術が近年発展している。特に、腫瘍組織から血液中に遊離した循環腫瘍 DNA (circulating tumor DNA : ctDNA) を用いた解析は急速に臨床実装が進んでおり、進行がんにおける治療標的となるドライバー遺伝子や治療抵抗性因子の検出のみならず、血液中の微量な ctDNA を検出することによるがん早期発見 (multiple cancer early detection : MCED) やがん根治治療後の分子残存病変 (molecular residual disease : MRD) の検出などにも応用されている。我々 SCRUM-Japan でも (1) 進行がんにおける治療標的・治療抵抗性因子の検出を目的とした研究 (GOZILA・MONSTAR-SCREEN-1・MONSTAR-SCREEN-2) や (2) 根治治療後の分子残存病変の検出を目的とした研究 (GALAXY) など複数の研究を実

施している。

### 本論

#### (1) リキッドバイオプシーを用いた進行がんにおける治療標的・治療抵抗性因子検出の臨床実装

我々は進行がんにおける治療標的・治療抵抗性因子の検出を目的とした研究として GOZILA・MONSTAR-SCREEN-1・MONSTAR-SCREEN-2 の3研究を実施してきた。GOZILA 研究では、進行消化器がんを対象として ctDNA 解析による治療標的の探索を行う分子プロファイリング研究である本研究と、腫瘍組織を用いた分子プロファイリング研究 (GISCREEN) との比較により、我々は ctDNA 解析による分子プロファイリングが治療有効性を損なわずに解析成功率・結果返却期間・臨床試験登録割合を従来の組織解析による分子プロファイリングよりも改善することを示した<sup>2)</sup>。次に開始された MONSTAR-SCREEN-1 研究では進行固形がんに対して臓器横断的に ctDNA 解析を経時的に行いつつ腫瘍組織解析も実施する分子プロファイリング研究である。我々は MONSTAR-SCREEN-1 研究において血中の循環遊離 DNA (circulating free DNA : cfDNA) 中の ctDNA 割合が十分な症例では ctDNA 解析が腫瘍における遺伝子異常を高率に検出しうることや、経時的な ctDNA 解析の実施により治療標的を効率的に検出しうることを示している。最後に、現在実施中の MONSTAR-SCREEN-2 研究では、血中の ctDNA のみならず buffy coat analysis を追加した新規のリキッドバイオプシー解析技術を用いることで、クローン造血 (clonal hematopoiesis) 由来の遺伝子異常による偽陽性を除外し真に腫瘍由来の治療標的遺伝子異常を同定する試

みを行っている。なお、本邦においてもこれらの結果をもとに複数のリキッドバイオプシー検査系が承認されている。

また、我々はリキッドバイオプシー等により同定された治療標的に対する新規治療開発を目的とした臨床試験（SCRUM-Japan 関連臨床試験）も複数実施している。このうち HER2 陽性進行大腸がんに対して抗 HER2 療法であるトラスツズマブ・ペルツズマブ併用療法を評価した TRIUMPH 試験では本療法の有効性が示され<sup>3)</sup>、本試験の結果を元に世界に先駆けて本邦での承認が取得されている。

## (2) リキッドバイオプシーを用いた根治治療後の分子残存病変検出の臨床実装

早期がん・局所進行がんは根治的な治療を実施することが可能である一方、一部の症例では再発を認めることがあり早期再発診断が重要となっている。また、再発を防ぐ目的で手術に組み合わせて行う補助療法が実施されるが、補助療法を実施したにも関わらず再発する症例の存在や補助療法による毒性などの問題が存在し、再発リスクの高い症例に対する補助療法の強化や再発リスクの低い症例に対する補助療法の省略など再発リスクに応じた補助療法の個別化が期待されており、症例ごとの再発リスクの正確な評価手法の開発が望まれている。近年、ctDNA による MRD 検出技術を用いた再発リスク評価が期待されており、我々も大腸がんにおいて ctDNA による MRD 検出技術の開発基盤（CIRCULATE-Japan）を構築している。CIRCULATE-Japan では大腸がんに対して ctDNA を用いた MRD 評価を行う観察研究である GALAXY 試

験を実施しているほか、GALAXY 試験により評価された MRD 解析で同定された再発高リスク群を対象として術後補助療法を強化する ALTAIR 試験、術後に MRD 陰性群に対して術後補助療法を省略する VEGA 試験を実施している。GALAXY 試験の中間解析では、術後 4 週時点における ctDNA 陽性と再発リスクの関連が示されたほか、ctDNA 陽性群では術後補助化学療法の有無により再発リスクが異なる一方で ctDNA 陰性では術後補助化学療法の有無による再発リスクに有意差は認められないなど、ctDNA を用いた MRD 評価による術後治療層別化の意義が示唆された<sup>4)</sup>。

## まとめ

我々の ctDNA 解析を用いたリキッドバイオプシーの臨床実装の試みについて概説した。リキッドバイオプシーを用いたがん治療の個別化のさらなる発展が期待される。

## 参考文献

- 1) Nakamura, Y., Fujisawa, T., Taniguchi, H. *et al.* : "SCRUM-Japan GI-SCREEN and MONSTAR-SCREEN : Path to the realization of biomarker-guided precision oncology in advanced solid tumors." *Cancer Sci.*, **112** (11), 4425-4432 (2021).
- 2) Nakamura, Y., Taniguchi, H., Ikeda, M. *et al.* : "Clinical utility of circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer : SCRUM-Japan GI-SCREEN and GOZILA studies." *Nat. Med.*, **26** (12), 1859-1864 (2020).
- 3) Nakamura, Y., Okamoto, W., Kato, T. *et al.* : "Circulating tumor DNA-guided treatment with pertuzumab plus trastuzumab for HER2-amplified metastatic colorectal cancer : a phase 2 trial." *Nat. Med.*, **27** (11), 1899-1903 (2021).
- 4) Kotani, D., Oki, E., Nakamura, Y. *et al.* : "Molecular residual disease and efficacy of adjuvant chemotherapy in patients with colorectal cancer." *Nat. Med.*, **29** (1), 127-134 (2023).

# ロングリードシーケンサーを用いた 新たながんエピゲノム異常の解明

永江 玄太

東京大学 先端科学技術研究センター ゲノムサイエンス&メディシン分野

## はじめに

ロングリードシーケンサーはこの数年で着実な進歩をみせており、ショートリードシーケンサーでは困難であったリピート領域の配列同定や未解明ゲノムの de novo アセンブリーに加えて、ヒト疾患における複雑なゲノム構造異常の解明などに応用されはじめている。また、深層学習を活用した塩基コールおよび修飾検出アルゴリズムの発達により、数十キロベースにわたる一連の長い配列情報と修飾情報の同時検出が可能となり、がん細胞におけるさまざまなメチル化異常の全容解明につながる事が期待されている。本発表では、こうしたロングリードシーケンサーを用いたがんゲノムメチル化解析の応用例を紹介する。

## 本論

### 1. がんの多層オミックス解析

ショートリード型の次世代シーケンサーの高スループット化に伴い、TCGA や ICGA など国際コンソーシアム計画を中心とした大規模がんゲノム解析が急速に進み、主だった癌腫のゲノム変異・ゲノム構造変異や遺伝子発現プロファイルがカタログ化された<sup>1,2)</sup>。高頻度にみられるドライバー遺伝子変異を効率よく検出するためのパネル検査も確立され、ゲノム医療における医療実装も国内で始まっている。こうした発展に貢献してきたショートリードシーケンサーだが、フローセル上で1塩基ずつシーケンス反応を繰り返し行うという測定原理上、シーケンスリード長が長くなるにしたがって精度が少しずつ低下する。また、長いライブラリサンプルはフローセル上での増幅効率が著しく低下するため、実質的にはシーケンス可能なリード長は数百塩基以内に限られ、これがショートリードと呼ば

れるゆえんである。ヒトゲノム中には、大きな類似構造をくりかえすリピート領域が少なからず存在し、こうした領域は従来のショートリードシーケンサーでは解析が困難とされてきた。そうしたなか、ロングリードシーケンサーの塩基コール精度が徐々に改善され、いわゆる「難読」領域のゲノム解析に応用されはじめている。2022年には、ヒトゲノム上のテロメアやセントロメア領域を含む完全な配列解析が初めて報告され、同時に DNA メチル化パターンも解析された (T2T 計画、telomere-to-telomere sequence)<sup>3)</sup>。ロングリードシーケンサーは、塩基配列のみならず DNA 修飾に伴う微細な電流変化を利用した修飾検出も進められており、長いリード長にわたる修飾情報の検出に有用であることが期待されている。

### 2. ロングリードシーケンサーの原理とメチル化の検出

Oxford Nanopore Technologies 社が開発しているナノポア型シーケンサーでは、DNA がわずか 1nm の小さな細孔構造 (ナノポア) を通過する際に生じる微細電流を検知し、その電流の波形パターンをもとに塩基配列を高精度に推定している。10年前の塩基コール精度は90%程度であり、ヒトの疾患ゲノム解析に用いるのは困難であったが、塩基コールのアルゴリズムにベイズ推定や深層学習が応用されるにしたがい解析精度が向上し、最新のフローセル R10.4.1 では、Q20 (99%) を超える精度を達成している<sup>4)</sup>。また、1回のランにおける出力量が90G程度 (ヒトゲノム30倍の深度に相当) まで向上したことから、今後は全ゲノム解析での活用が大きく期待されると考えられる。

### 3. がんにみられる DNA メチル化異常

がん細胞のゲノムでは多くのゲノム変異・ゲノム構造異常とともに DNA メチル化をはじめとしたエピゲノム異常がみられる。正常細胞のゲノムでは CG 配列のシトシンは多くがメチル化されているが、転写活性化領域のプロモーターやエンハンサー領域は非メチル化状態にあることで、さまざまな転写制御因子がそこに結合し、活性型クロマチン領域が構成されて安定的な mRNA 転写が行われる。一方、がん細胞のゲノムでは多くのプロモーターやエンハンサー領域に異常メチル化が生じることでがん抑制遺伝子などが不活性化状態となっている<sup>5)</sup>。異所性の活性化領域では脱メチル化あるいはヒドロキシメチル化によってがん原遺伝子の活性化などが観察される。そのほかに、父方由来アリルと母方由来アリルが異なる転写制御下にあるインプリンティング遺伝子<sup>6)</sup>の制御異常なども報告されている。図1に示すのは、ロングリードシーケンサーで検出したがん遺伝子のメチル化異常の例である。プロモーター領域の異常メチル化は両アリルで生じていることが通常であるが、SNP 情報を用いたハプロタイピングとメチル化の同時解析により片アリルのみに生じた異常メチル化領域を数多く検出した。こうしたロングリードシーケンサーでの観察結果は、異常メチル化が実際には段階的に起こっている可能性を

示唆しており、変異情報とあわせて解析することによってがん細胞のクローン進化過程に新たな知見を与えることが期待される。

ナノポアシーケンサーでは、メチル化だけでなく、脱メチル化過程の中間代謝産物であるヒドロキシメチル化の検出も可能であることがわかってきた。メチル化シトシンは TET ファミリータンパクによりヒドロキシメチルシトシンへと酸化される<sup>7)</sup>が、通常メチル解析で用いられるバイサルファイト変換を用いた検出法では両者を区別することができない<sup>8)</sup>。そこで、筆者らは、抗ヒドロキシメチルシトシン抗体を用いた hmDIP-seq 法で検出したヒドロキシメチル化領域<sup>9)</sup>についてナノポアシーケンサーの測定結果と比較した。ヒドロキシメチル化の多くは転写開始点近傍のメチル化領域と非メチル化領域の境界付近にみられ、図2に示すように hmDIP-seq 法で同定した領域にヒドロキシメチル化シトシンが1塩基の解像度で検出されていた。その中には、異所性に活性化したがん原遺伝子のエンハンサー領域なども含まれ、がんゲノムに生じた発がんシグナルの活性化領域の探索に有効であることを示唆している。

#### まとめ

ナノポアシーケンサーを用いたがんゲノムメチル化

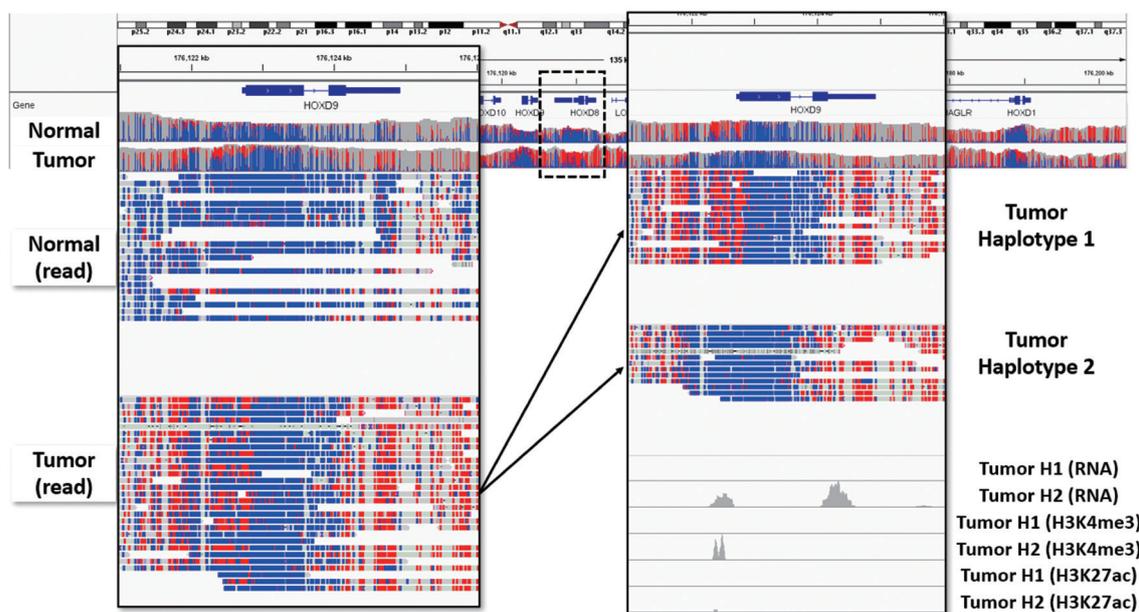


図1. ロングリードシーケンサーで検出したアリル特異的ながん細胞のメチル化異常

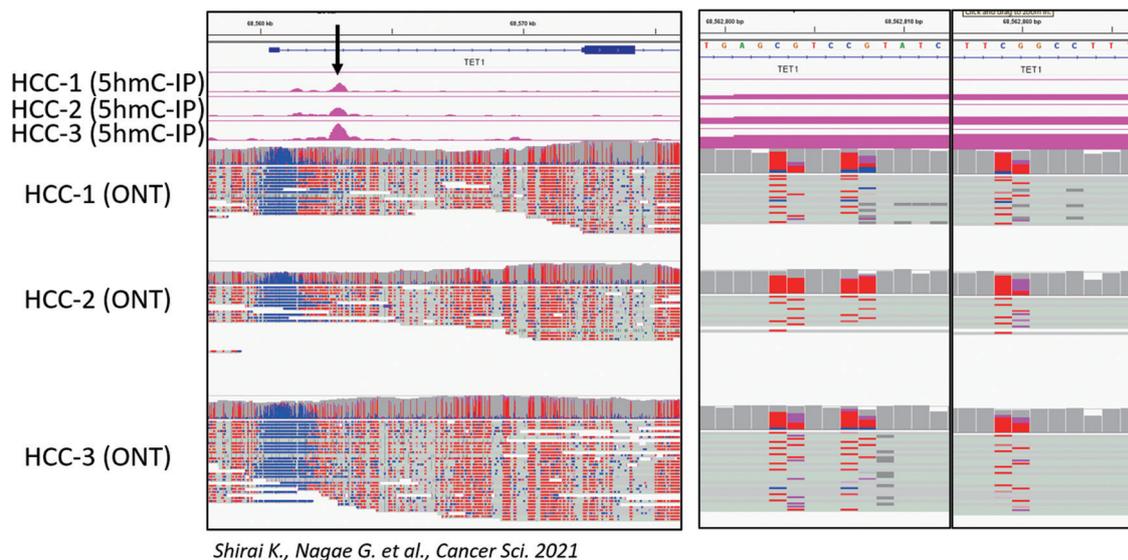


図 2. ロングリードシーケンサーで検出したがん組織におけるヒドロキシメチル化異常

解析の応用例を紹介した。さらなる精度向上とともに、ヒト疾患ゲノム解析に新たな知見を提供し、診断と治療に役立てられることを期待している。

#### 参考文献

- 1) ICGC/TCGA Pan-Cancer Analysis of Whole Genomes Consortium. : "Pan-cancer analysis of whole genomes." *Nature*, **578**, 82-93 (2020).
- 2) 永江玄太 : "総論 : 疾患の病態解明に向けた統合オミックス解析" *遺伝子医学*, **45** (2023).
- 3) Nurk, S., Koren, S., Rhie, A. *et al.* : "The complete sequence of a human genome." *Science*, **376**, 44-53 (2022).
- 4) <https://nanoporetech.com/ja/ncm2021/q20-chemistry-updates>
- 5) Michalak, E.M., Burr, M.L., Bannister, A.J. and Dawson, M.A. : "The roles of DNA, RNA and histone methylation in ageing and cancer." *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **20**, 573-589 (2019).
- 6) Akbari, V., Garant, J.M., O'Neill, K., *et al.* : "Genome-wide detection of imprinted differentially methylated regions using nanopore sequencing." *Elife*, **5**, 11, e77898 (2022).
- 7) Wu, X. and Zhang, Y. : "TET-mediated active DNA demethylation : mechanism, function and beyond." *Nat. Rev. Genet.*, **18**, 517-534 (2017).
- 8) Berney, M. and McGouran, J.F. : "Methods for detection of cytosine and thymine modifications in DNA." *Nat. Rev. Chem.*, **2**, 332-348 (2018).
- 9) Shirai, K., Nagae, G., Seki, M. *et al.* : "TET1 upregulation drives cancer cell growth through aberrant enhancer hydroxymethylation of HMG2 in hepatocellular carcinoma." *Cancer Sci.*, **112**, 2855-2869 (2021).

## がんのフェロトーシス回避機構と新規治療法の開発

永野 修

藤田医科大学 研究推進本部 がん医療研究センター 遺伝子制御研究部門

### はじめに

生物は酸素から効率的にエネルギーを獲得するために酸化還元反応を利用しているが、その反応の触媒として鉄イオンを必要とする。生体内および細胞内における鉄イオンや活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) レベルは厳密に調節されており、恒常性が維持されているが、細胞内で常時生成される過酸化水素が鉄イオンと反応すると、脂質酸化力が高いヒドロキシラジカルが生成され、細胞のリン脂質の酸化が生じる。このような脂質の酸化反応は、グルタチオン (GSH) を介した抗酸化システムによって抑制されているが、酸化還元バランスの破綻が生じた細胞では過酸化脂質の蓄積の結果、フェロトーシス (鉄依存性細胞死) と呼ばれる細胞死が生じる。高い増殖性を示し、正常細胞と比較して多くのエネルギーを必要とするがん細胞ではフェロトーシスを抑制するための抗酸化システムに依存性が高いことから、近年新たな治療標的として注目されている。私たちは、早くからがん細胞の抗酸化システムやフェロトーシス制御機構に着目し、その阻害剤の探索や新規治療法の開発を行ってきた。

### 本論

#### 1. がん幹細胞のフェロトーシス制御機構

フェロトーシス (鉄依存性細胞死) は2012年に Stockwell らのグループによって提唱された新しいプログラム細胞死であり、活性酸素の蓄積や GSH 合成の抑制など酸化還元バランスの破綻に伴う脂質の過酸化が原因となって誘導される<sup>1,2)</sup>。近年、フェロトーシスはパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患や心筋梗塞、脳卒中といった虚血性疾患の

病態にも関わっていることが明らかとなり<sup>3)</sup>、フェロトーシス制御による予防薬や治療薬の開発が盛んに行われている。一方、がんではフェロトーシスが腫瘍細胞の成長を抑制しており、がん細胞特異的にフェロトーシスを誘導可能な治療薬の開発が行われている。

がん細胞のフェロトーシス回避機構における重要な分子の一つは GSH 合成に必要なアミノ酸であるシスチンを供給するシスチン・グルタミン酸トランスポーターである (図1)。シスチン・グルタミン酸トランスポーターは、CD98 重鎖と xCT (CD98 軽鎖) から成るヘテロ二量体であり、細胞内に豊富に存在するアミノ酸であるグルタミン酸を細胞外に放出して細胞外の少量のシスチンを取り込む交換輸送に関与している<sup>4)</sup>。以前、私たちは乳がん、胃がん、大腸がん、前立腺がん、頭頸部扁平上皮がんなどの固形がんにおける主要ながん幹細胞マーカー CD44 のスプライスバリエント (CD44 バリエント : CD44v) が、シスチン・グルタミン酸トランスポーターサブユニットである xCT と相互作用し、細胞表面に安定化することで、細胞外に少量存在するアミノ酸であるシスチンの取り込みを促進する役割を持つことを発見した<sup>5,6)</sup>。CD44v の発現が亢進し xCT の安定化が生じているがん幹細胞では GSH が大量に存在し、がん治療や転移の過程で受ける酸化ストレスやフェロトーシスから回避するようになり、再発や転移の原因となることが考えられる<sup>6,7)</sup>。また、フェロトーシス制御において重要なもう一つの酵素は GSH 依存的に脂質の酸化を還元するグルタチオンペルオキシダーゼ 4 (GPX4) である。GPX4 の活性には GSH が重要なため、xCT の阻害による細胞内の GSH の枯渇は ROS を蓄積させるのみならず、GPX4 の活性を損なうことで過酸化脂質の生成を促進してフェロトーシスを誘導する。また生成した過酸化脂質が分解されると 4-ヒドロキシノネ

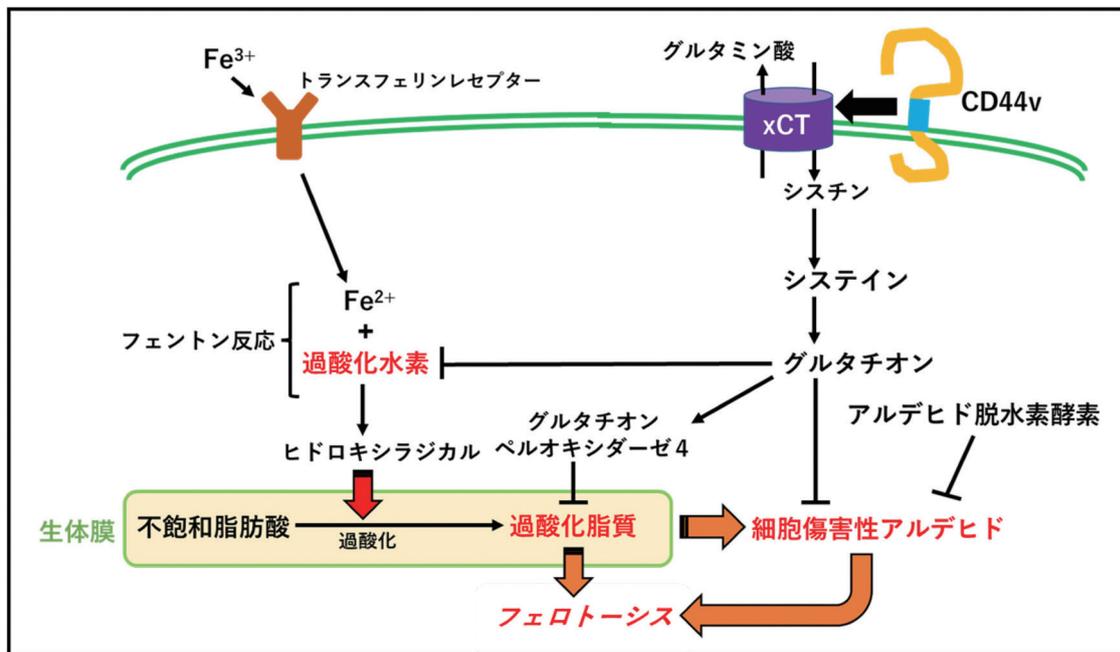


図1. がん幹細胞のフェロトーシス制御機構

ナル (4-HNE) やマロンジアルデヒド (MDA) などの過酸化脂質由来アルデヒドが産生される。これら 4-HNE や MDA は DNA、蛋白質、脂質などのあらゆる生体内物質に付加体 (アダクトまたは共有結合体) を形成することで細胞傷害性を発揮する。通常、酸化還元バランスが保たれた細胞ではシステインや GSH による還元、あるいはアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) を介した酸化によって代謝され無毒化されている<sup>8)</sup>。一方、がん細胞が酸化ストレス状態に陥り、4-HNE や MDA が蓄積しやすくなると、細胞内システインや GSH といった細胞の還元力がアルデヒドを代謝するために消費されてしまうため、フェロトーシスに対する脆弱性が増強する。しかしながら、がん幹細胞では xCT が細胞表面に高発現することで、システインと GSH の細胞内含量が高レベルに維持されており、さらに (がん幹細胞の指標として知られる) 高い ALDH 活性により 4-HNE や MDA の蓄積が抑えられ、一時的に酸化ストレス状態に陥ったとしてもフェロトーシスから回避しやすい特性を有していることが推測される<sup>9,10)</sup> (図1)。

## 2. フェロトーシス誘導による治療法の開発

慢性関節リウマチや潰瘍性大腸炎の治療薬として長く用いられてきたスルファサラジンという既存薬は、xCT を介したシスチンの取り込みを特異的に阻

害することで、細胞内のシステイン欠乏を引き起こし、GSH 合成を効果的に抑える効果がある<sup>11)</sup>。そのため、xCT 阻害剤スルファサラジンによる GSH レベルの減少はがん細胞の抗酸化力を減少させるのみならず、フェロトーシスの原因となる過酸化脂質の重要な代謝酵素である GPX4 の活性を低下させる。そのため、がん細胞に xCT 阻害剤スルファサラジンを投与するとフェロトーシスに対する脆弱性が高まり、放射線やシスプラチンといった ROS を誘導するがん治療の抗腫瘍効果を協調的に増強させることが期待できる。

近年、私たちは GSH の枯渇ではフェロトーシスが誘導されないがん細胞 (フェロトーシス抵抗性がん細胞) を用いて、フェロトーシス抵抗性に関する基礎研究を行った。フェロトーシス抵抗性がん細胞を用いて xCT 阻害剤スルファサラジンと合成致死作用を有する薬剤のスクリーニングを行ったところ、ジクロニンという薬剤を同定することに成功した<sup>9)</sup>。もともと、ジクロニンは口腔粘膜に対する表面麻酔として作用する既存薬であるが、構造的にアロマティックケトンとアミンという特徴的なモチーフを有しており、β水素脱離を生じて反応性アロマティックビニルケトンを生じることが分かった。生成した反応性アロマティックビニルケトンは ALDH の活性中心に存在するシステイン残基と共有結合を起こすことで、ALDH 活性

を強力に阻害する。xCT 阻害剤であるスルファサラジンと ALDH 阻害剤であるジクロニンを用いると、過酸化脂質の分解産物である細胞傷害性アルデヒド (4-HNE や MDA) が細胞内に著明に蓄積してフェロトーシスに抵抗性を有するがん細胞であっても、フェロトーシス誘導性薬剤に対して感受性に変化させることが可能であることが分かった<sup>9)</sup>。また、ジクロニンと類似の骨格を有する経口投与が可能な薬剤であるオキシフェドリン (血管拡張薬) もジクロニンと同様にフェロトーシス誘導性薬剤に対して合成致死作用を有していることを見出している<sup>10)</sup>。また担癌マウスを用いたスルファサラジンとジクロニンあるいはオキシフェドリンの併用による治療実験では強い抗腫瘍効果が認められるのに反してマウスの体重減少がほとんど生じないことから、スルファサラジンと抗がん剤の組み合わせと比較して非常に安全性が高いことが示唆された。このようにがん幹細胞で選択的に活性化するフェロトーシス回避機構を標的とする治療は、がんへの選択性が高く、副作用の少ない画期的な治療法の開発に繋がることが考えられる。現在、私たちの研究グループは xCT 阻害剤スルファサラジンと ALDH 阻害剤オキシフェドリンを用いてがんのフェロトーシス回避機構を標的とする新規治療法の医師主導治験を計画している。

## まとめ

近年、がん以外にも神経変性疾患や心血管疾患などの病態や疾患の進行に酸化還元バランスの破綻によって誘導される細胞死であるフェロトーシスが関与していることが明らかとなっており、フェロトーシス制御薬の開発を目的とした基礎研究が国内外で広く行われている。これまでに私たちは GSH 合成系において重要な役割を果たす分子であり、多くのがん細胞で高発現しているシスチン・グルタミン酸トランスポー

ター xCT に着目し、がんフェロトーシスを効果的に誘導するための標的分子と薬剤の探索を行い、臨床応用を目指した治療法を考案してきた。今後、フェロトーシスが関与する様々な疾患や病態において、さらに各細胞系におけるフェロトーシス制御機構の仕組みや異常が分子レベルで明らかになり、アンメットメディカルニーズに応える画期的な予防薬や治療薬が開発されることが期待される。

## 参考文献

- 1) Dixon, S.J. *et al.*: "Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death." *Cell*, **149**, 1060-1072 (2012).
- 2) Jiang, X. *et al.*: "Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease." *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.*, **22**, 266-282 (2021).
- 3) Costa, I. *et al.*: "Molecular mechanisms of ferroptosis and their involvement in brain diseases." *Pharmacol. Ther.*, **244**, 108373 (2023).
- 4) Sato, H. *et al.*: "Cloning and expression of a plasma membrane cysteine/glutamate exchange transporter composed of two distinct proteins." *J. Biol. Chem.*, **274**, 11455-11458 (1999).
- 5) Ishimoto, T. *et al.*: "CD44 variant regulates redox status in cancer cells by stabilizing the xCT subunit of system xc (-) and thereby promotes tumor growth." *Cancer Cell*, **19**, 387-400 (2011).
- 6) Yae, T. *et al.*: "Alternative splicing of CD44 mRNA by ESRP1 enhances lung colonization of metastatic cancer cell." *Nat. Commun.*, **6**, 883 (2012).
- 7) Nagano, O. *et al.*: "Redox regulation in stem-like cancer cells by CD44 variant isoforms." *Oncogene*, **19**, 387-400 (2011).
- 8) Ayala, A. *et al.*: "Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal." *Oxid. Med. Cell. Longev.*, **2014**, 360438 (2014).
- 9) Okazaki, S. *et al.*: "Synthetic lethality of the ALDH3A1 inhibitor dyclonine and xCT inhibitors in glutathione deficiency-resistant cancer cells." *Oncotarget*, **9**, 33832-33843 (2018).
- 10) Otsuki, Y. *et al.*: "Vasodilator oxyfedrine inhibits aldehyde metabolism and thereby sensitizes cancer cells to xCT-targeted therapy." *Cancer Sci.*, **111**, 127-136 (2020).
- 11) Gout, P.W. *et al.*: "Sulfasalazine, a potent suppressor of lymphoma growth by inhibition of the x (c)-cysteine transporter: a new action for an old drug." *Leukemia*, **15**, 1633-1640 (2001).

## がんのウイルス療法の臨床開発と実用化

藤堂 具紀

東京大学 医科学研究所 先端医療研究センター 先端がん治療分野

### はじめに

がんはわが国の死因の第1位を占め、医療技術の進歩にもかかわらずがんによる死亡数は増加の一途をたどる。手術、放射線治療、薬物療法の3つの治療アプローチはこの何十年と変わらず、標準治療後に有効な手段がなくなったがん難民や、悪性脳腫瘍のように既存治療では100%腫瘍死するがんに対する新しいがん治療法のニーズは高い。ウイルス療法は、がん細胞のみで増えるウイルスを感染させ、ウイルスの直接的な殺細胞作用によりがん細胞を破壊して治療を図る(図1)。実用的ながん治療用ウイルスを得るには、遺伝子工学的にウイルスゲノムを「設計」して、がん細胞ではよく増えても正常細胞では全く増えないウイルスを人工的に造ることが重要である。

### 本論

我々は、単純ヘルペスウイルスI型(HSV-1)を用い、安全に応用できる遺伝子組換えHSV-1の臨床開発を日本で進めている。特に、三重変異を有する第三世代のがん治療用HSV-1(G47Δ)は、がん細胞に限ってウイルスがよく増えるように改良され、抗がん免疫をより強く惹起することから、既存のがん治療用HSV-1に比べて安全性と治療効果が格段に向上した。G47Δはまた、がん幹細胞を効率良く殺す<sup>1)</sup>。

2003年から、日本において前例のないウイルス療法の臨床開発をアカデミア主導で推進した。国産初のウイルス治験薬を東京大学内の臨床用ウイルス製造施設においてGMPで製造し、複製可能型遺伝子組換えウイルスを用いた臨床試験として初めて国の承認を得て、2009年から再発の膠芽腫(最も悪性度が高い脳腫瘍)を対象としてfirst-in-human(FIH)試験を実

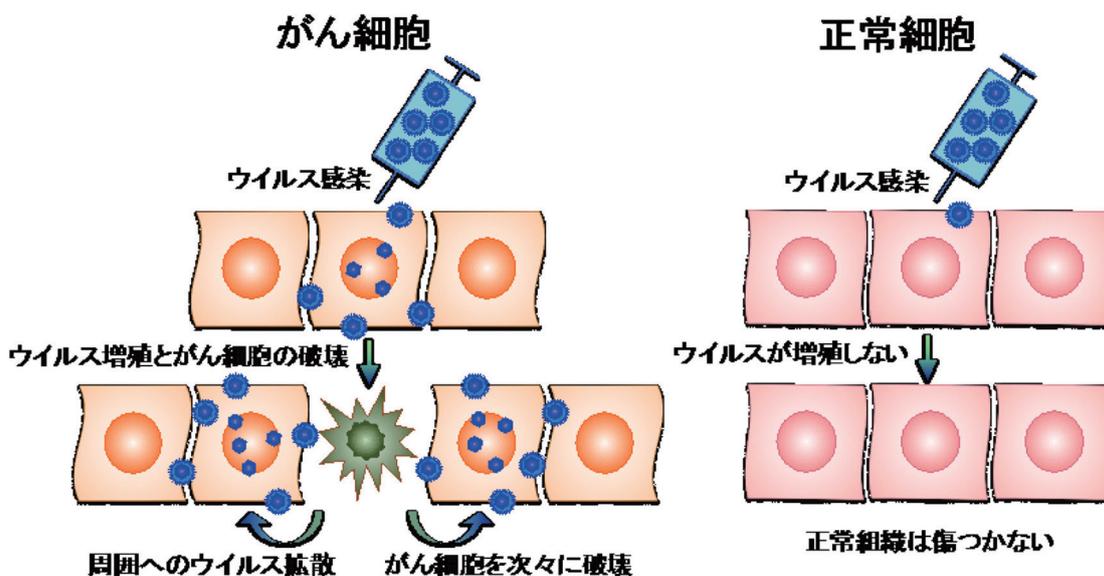


図1. がんのウイルス療法の概念図

施し、G47 Δの脳腫瘍内投与の安全性を証明した。この臨床試験において、 $1 \times 10^9$  単位の G47 Δ（野生型 HSV-1 であれば脳炎を起こして死に至らしめる量の凡そ 100 万倍量）を繰り返し脳腫瘍内に投与しても安全であることに加え、投与された G47 Δが脳腫瘍内で直ちに複製してがん細胞を破壊すること、がんに対する免疫反応が短時間で起こり腫瘍内にリンパ球が流入すること、本来有効な治療法がない再発膠芽腫において腫瘍縮小と長期生存が生じ得ること（図 2）、などが明らかになった<sup>2)</sup>。2015 年からは国内初のウイルス療法の「治験」として、残存・再発膠芽腫を対象にした医師主導治験（第Ⅱ相）を実施し、複数の治癒例を含む著明な生存期間延長を示す高い有効性を明らかにした<sup>3)</sup>。G47 Δの抗腫瘍作用は、ウイルス複製に伴う直接的がん細胞破壊（即時効果）とがん細胞に特異的な抗がん免疫（遅発効果）の二段階で発揮されることが臨床で示された。また生検組織の解析により、G47 Δを投与する度に、腫瘍内に CD4 および CD8 陽性 T リンパ球が流入し、免疫学的 cold な腫瘍を hot に転換する作用があることが示された。この治験結果を主試験として、日本初また脳腫瘍に対して世界初のウイルス療法薬として厚生労働省の製造販売承認（条件及び期限付）が得られ、2021 年 11 月より悪性神経膠腫（悪性脳腫瘍）を保険適用の対象として G47 Δの市販が開始、現在実臨床に使用されている。医師主導治験および保険適用で採用した、手術を伴う最大 6 回の反復した脳腫瘍内投与という治療デザインは、皆保険制度の日本だからこそ開発できた。そのような治療がそもそも可能であり、かつ高い有効性を呈すること、更には本来 100% 腫瘍死する膠芽腫患者が G47 Δ

治療によって治癒する可能性があるという事実は、世界の脳腫瘍治療現場に大きなインパクトとパラダイムシフトをもたらした。

G47 Δは全ての固形がんと同じ機序で同じように有効性を発揮することが非臨床試験で示されており、2013 年からは前立腺癌や嗅神経芽細胞腫、2018 年からは悪性胸膜中皮腫を対象とした臨床試験も開始されている。今後、可及的速やかに全ての固形がんに適応を拡大することを目指す。

一方 HSV-1 は正確な遺伝子組換えが難しく、開発に時間と労力を要する難点があったが、我々は、ウイルスゲノム全体を細菌人工染色体（BAC）プラスミドに組み入れて、任意の塩基配列を短期間かつ的確に組み込んで次世代型の遺伝子組換え HSV-1 を次々と作製できる画期的技術を開発し、抗がんウイルス創薬として発展させる基盤を築いた<sup>4)</sup>。複数種の機能付加型 HSV-1 を混ぜると相乗的治療効果を発揮する<sup>5)</sup>。インターロイキン 12（IL-12）発現型は特に、免疫刺激を介してがん治療用 HSV-1 の抗がん作用を著明に増強する<sup>6)</sup>。そこで、ヒト IL-12 発現型 HSV-1 を作製して、現在、悪性黒色腫を対象とした第Ⅰ／Ⅱ相医師主導治験を進めている。遺伝子組換え HSV-1 作製システムを用いて、がんのみならず良性腫瘍にも治療効果を現す腫瘍治療用 HSV-1 を開発し<sup>7)</sup>、遺伝性良性腫瘍疾患への臨床応用も進めている。

## まとめ

ウイルス療法は、効率のよいがんワクチンとして働き、生存期間の延長に加え治癒する可能性を高めるこ

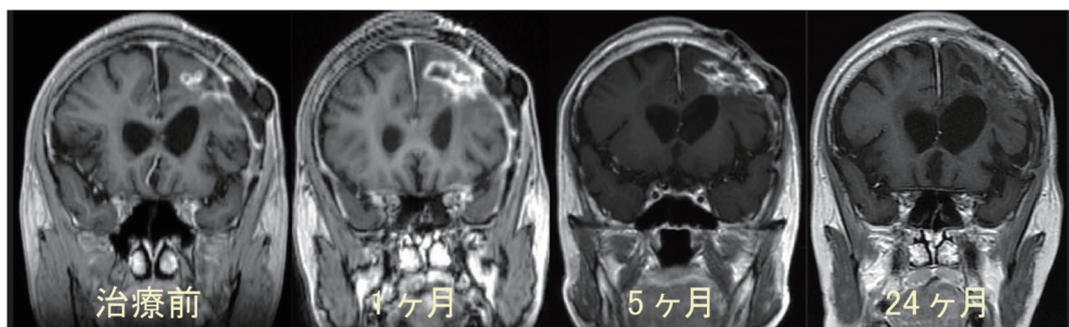


図 2. 再発膠芽腫患者。G47 Δ治療後 13 年以上生存中。  
Todo T et al : Nature Communications 2022

とから、普及すればがん医療に革命をもたらすと期待される。

#### 参考文献

- 1) Todo, T., Martuza, R.L., Rabkin, S.D. and Johnson, P.A. :  
“Oncolytic herpes simplex virus vector with enhanced MHC class I presentation and tumor cell killing.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98** (11), 6396-6401 (2001).
- 2) Todo, T., Ino, Y., Ohtsu, H., Shibahara, J. and Tanaka, M. : “A phase I/II study of triple-mutated oncolytic herpes virus G47Δ in patients with progressive glioblastoma.” *Nat. Commun.*, **13** (1), 4119 (2022).
- 3) Todo, T., Ito, H., Ino, Y., Ohtsu, H., Ota, Y., Shibahara, J. and Tanaka, M. : “Intratumoral oncolytic herpes virus G47Δ for residual or recurrent glioblastoma : a phase 2 trial.” *Nat. Med.*, **28**, 1630-1639 (2022).
- 4) Fukuhara, H., Ino, Y., Kuroda, T., Martuza, R.L. and Todo, T. :  
“Triple gene-deleted oncolytic herpes simplex virus vector double-armed with IL-18 and soluble B7-1 constructed by bacterial artificial chromosome-mediated system.” *Cancer Res.*, **65** (23), 10663-10668 (2005).
- 5) Ino, Y., Saeki, Y., Fukuhara, H. and Todo, T. : “Triple combination of oncolytic HSV-1 vectors “armed” with interleukin 12, interleukin 18 or soluble B7-1 results in enhanced antitumor efficacy.” *Clin. Cancer Res.*, **12**(2), 643-652 (2006).
- 6) Fukuhara, H., Sato, Y.T., Hou, J., Iwai, M. and Todo, T. : “Fusion peptide is superior to co-expressing subunits for arming oncolytic herpes virus with interleukin 12.” *Commun. Med. (Lond)*, **3** (1), 40 (2023).
- 7) Fukuhara, H., Takeshima, Y. and Todo, T. : “Triple-mutated oncolytic herpes virus for treating both fast- and slow-growing tumors.” *Cancer Sci.*, **112**, 3293-3301 (2021).

# 富士フイルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号 TEL: 06-6203-3741 (代表)  
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL: 03-3270-8571 (代表)

 フリーダイヤル 0120-052-099

試薬 URL : <https://labchem-wako.fujifilm.com>

E-mail : [ffwk-labchem-tec@fujifilm.com](mailto:ffwk-labchem-tec@fujifilm.com)

営業所 : 九州・中国・東海・横浜・筑波・東北・北海道