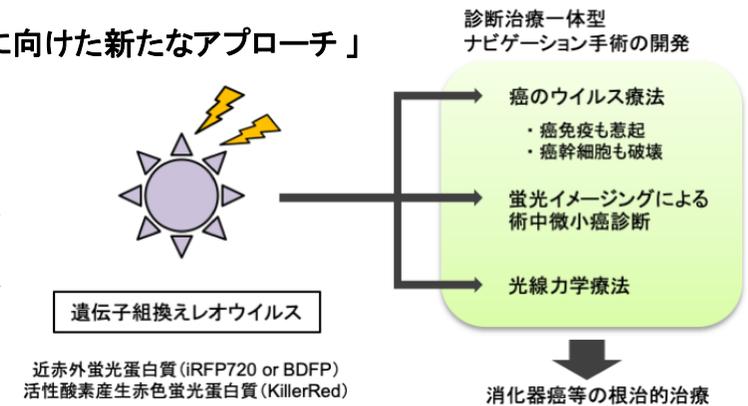


## ●事業概要

認定期間: 2016年7月～2022年3月

「近赤外蛍光発現腫瘍溶解性組み換えレオウイルスによる、難治性消化器癌診断・治療に向けた新たなアプローチ」

難治性消化器癌の診断(蛍光ナビゲーション)・治療(光線力学療法)に資する近赤外蛍光蛋白質等を発現する腫瘍溶解性レオウイルスを開発する。すなわち、近赤外蛍光蛋白質や活性酸素産生赤色蛍光蛋白質を発現する遺伝子組換えレオウイルスを作成し、膵臓癌や胃癌およびそれらの転移癌の診断・治療における有用性を担癌マウスモデルにて検証する。動物モデルで有用性が確認されれば、実用化に向けた臨床試験も検討する。



## ●実施体制

### 大分大学

医学部微生物学講座  
西園 晃(代表)

医学部消化器・小児  
外科学講座

衛藤 剛  
小川雄大  
白坂美哲  
北川雅浩

動物モデルでの評価  
臨床試験

### 宮崎大学

獣医公衆衛生学講座  
山田健太郎

組換えレオウイルスの作成

### 大阪大学

微生物病研究所  
小林剛

組換えレオウイルス作成  
システムの提供・助言

## ●研究実績の概要

### 2016～2021年度

研究実施期間内に、近赤外蛍光蛋白質iRFP720, BDFPおよび活性酸素産生赤色蛍光蛋白質KillerRedを発現する組換えレオウイルスの作成に成功した。ヒト癌細胞株およびハムスター癌細胞株への組換えウイルスの感染と蛍光発現も確認することができた。(2016～2018)

*in vitro*において発現確認されたBDFPおよびKillerRed組換えレオウイルスのヒト癌細胞への感染を、*in vivo*での担癌マウスモデルを用いて実証した。これにより光線力学療法を含めた抗腫瘍効果や、蛍光イメージングによる術中微小癌診断における有用性の評価を行った。さらには、免疫機能が正常な担癌マウスを用いた組換えレオウイルスの抗腫瘍効果および血行動態についても検証を行った。今後動物モデルでの有用性が確認されれば、実用化に向けた臨床試験を検討している(2019～2021)。

## 【背景】

### 癌のウイルス療法とは

- 癌細胞のみで複製可能なウイルスを感染させて破壊
- 癌に対する免疫の惹起による全身での抗腫瘍効果も誘導
- 癌幹細胞も破壊
- 手術で全摘できなかった症例における根治的療法として期待
- 遺伝子工学技術を用いてウイルスを任意に設計可能
- 癌細胞への特異性や殺細胞効果・がん免疫効果を高め、安全性や効果の向上も可能

### レオウイルスとは

- ゲノムは10分節から成り、病原性はほとんどない(高い安全性)
- Rasの活性化した癌細胞で増殖し、特に膵癌では80%以上の症例でrasの活性化をもたらす変異あり
- 遺伝子組換え技術が確立済

### 消化器癌について

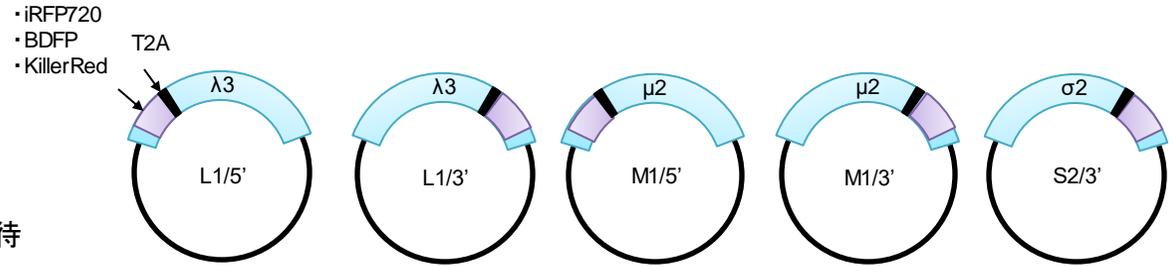
- 腹膜転移とリンパ節転移は予後不良因子であり、膵癌と胃癌では特にその頻度が高い
- 蛍光色素を用いた術中蛍光イメージングによる微小癌診断や光線力学療法が期待されている

## 【目的】

術中蛍光イメージングによる微小癌診断や光線力学療法に資する近赤外蛍光蛋白質発現組換えレオウイルスの開発を行う

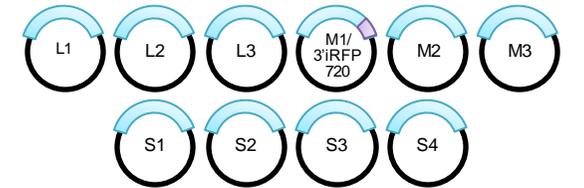
## 【成果】

これまでに、近赤外蛍光蛋白質iRFP720, BDFPおよび活性酸素産生赤色蛍光蛋白質KillerRedを発現する組換えレオウイルスの作成に成功した。ヒト癌細胞株およびハムスター癌細胞株への感染および蛍光発現も確認できた。



組換えレオウイルス分節ゲノムプラスミド

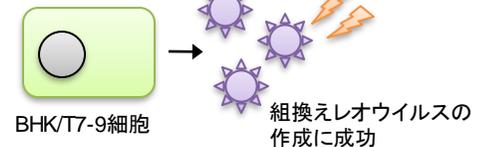
※2AIは自己切断ペプチドで1つの遺伝子から2つの蛋白質発現が可能



各ゲノムRNAをコードするプラスミド計10本を細胞に同時に導入することで、プラスミド由来、つまり目的の組換えレオウイルスを作成することができる

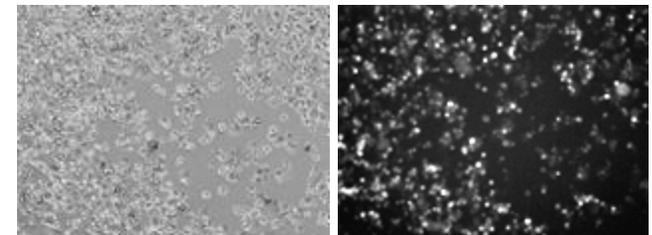
プラスミド導入

組換えレオウイルス回収



明視野

蛍光像 (iRFP720)



組換えレオウイルス感染細胞において、細胞変性効果とiRFP720による蛍光発現を確認

# これまでの成果

## (1) 研究、調査及びその成果の発表の実績

年 度	2016年度	2017年度	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度
論文発表件数	0	2	2	4	0	1
国際共著論文	0	0	0	3	0	1

### 認定期間に発表した代表的な論文リスト

- Yamada K, Kuribayashi K, Inomata N, Noguchi K, Kimitsuki K, Demetria CS, Saito N, Inoue S, Park CH, Kaimori R, Suzuki M, Saito-Obata M, Kamiya Y, Manalo DL, Quiambao BP, [Nishizono A](#). Validation of serum apolipoprotein A1 in rabies virus-infected mice as a biomarker for the preclinical diagnosis of rabies. *Microbiol Immunol*. 2021 Jul 16. doi: 10.1111/1348-0421.12929.
- Isomura M, Yamada K, Noguchi K, [Nishizono A](#). Near-infrared fluorescent protein iRFP720 is optimal for *in vivo* fluorescence imaging of rabies virus infection. *J Gen Virol*. 2017 Oct 17. doi: 10.1099/jgv.0.000950.
- [Yamada K](#), Noguchi K, Kimitsuki K, Kaimori R, Saito N, Komeno T, Nakajima N, Furuta Y, [Nishizono A](#). Reevaluation of the efficacy of Favi piravir against rabies virus using *in vivo* imaging analysis. *Antiviral Res*. 2019 Dec;172:104641. doi:10.1016/j.antiviral.2019.104641. Epub 2019 Oct 28.
- [Etoh T](#), Honda M, Kumamaru H, Miyata H, Yoshida K, Koderu Y, Kakeji Y, Inomata M, Konno H, Seto Y, Kitano S, Hiki N: Morbidity and Mortality From a Propensity Score-Matched, Prospective Cohort Study of Laparoscopic Versus Open Total Gastrectomy for Gastric Cancer: Data From a Nationwide Web-Based Database. 32 (6) : 2766-2773, *Surg Endosc*, 2018.

## (2) 共同研究、受託研究、寄附金及び競争的研究資金の獲得実績の金額

年 度	2016年度	2017年度	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度
共同研究獲得金額	0	0	0	0	0	0
受託研究獲得金額	0	0	3,998	7,798	4,997	4,998
寄附金受入れ金額	750	750	750	750	1,400	1,550
競争的資金獲得金額 (件数)	7,519 (3)	1,710 (3)	1,730 (5)	3,370 (5)	3,910 (5)	8,787 (4)

## (3) 知的財産関係

年 度	2016年度	2017年度	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度
特許化件数(うち外国)	0	0	0	0	0	0