

1. HPV を標的にした子宮頸癌に対する創薬開発

川名 敬

東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻産婦人科学講座 准教授

ヒトパピローマウイルス (HPV) のうち発癌性 HPV では、持続感染によって子宮頸癌をはじめとする癌を発症することがある。HPV を標的とした子宮頸癌治療には、E6, E7 が標的分子として期待される。HPV を標的とした分子標的治療として我々は2つ考えた。①ウイルス癌遺伝子の発現を siRNA で抑える核酸医学と、②ウイルス癌蛋白質を癌抗原とした癌免疫療法、である。①ウイルス癌遺伝子の発現を抑える核酸医学は多く検討されてきたが、その drug-delivery system (DDS) が問題であった。我々は高分子ナノミセルを用いた DDS を E6/E7 siRNA に組み合わせた創薬基礎研究を行った。② HPV 分子に対する細胞性免疫を誘導することによって免疫学的排除を目指した癌免疫療法 (HPV 治療ワクチンとも言う) は子宮頸癌やその前癌病変に対する臨床試験も多く実施されてきた。しかし、いずれも実用化されていない。我々は HPV16 型 E7 に対する粘膜免疫を誘導する癌免疫療法として E7 発現乳酸菌を製剤化し、経口投与することを考えた。子宮頸癌前癌病変 (CIN3) 患者を対象とした臨床試験では、腸管粘膜で誘導された抗 E7-IFN-gamma 産生細胞が子宮頸部粘膜にホーミングし、CIN3 を退縮させることを見いだした。HPV 発癌を逆手に取った HPV 分子標的治療について、新しい戦略を用いた創薬とその臨床応用の可能性が示唆された。

子宮頸癌をはじめとする HPV による発癌

ハイリスク HPV は持続感染しやすい (潜伏状態になりにくい)。この HPV 持続感染が HPV 感染から子宮頸癌の発生につながる最も直接的なイベントである。HPV の持続感染とは、HPV が“持続的に増殖感染状態”になることである。HPV が娘ウイルスを増やそうとすると、HPV の E6, E7 遺伝子によって感染細胞の分裂が促進される。この HPV がウイルス増殖を行っている状態 (増殖感染) が Cervical intraepithelial neoplasia grade 1 (CIN1) に相当する。増殖感染が持続すると、偶発的にウイルスゲノムが細胞ゲノムに挿入 integration されてしまうことがある。

挿入されたウイルスゲノムでは E6, E7 遺伝子の発現が制御不能となる。E6, E7 蛋白質は、感染細胞の癌抑制蛋白質を阻害する作用を持ち、無秩序に細胞増殖が促進され、かつアポトーシスを起らなくなり不死化する。この状態が CIN2, CIN3 に相当する。そこに他の発癌促進因子 (代表的なものは喫煙) が加わり、遺伝子異常の蓄積、染色体異常が続き、最終的に癌形質を獲得していく。HPV 関連の性器癌はどれも同様の機序であると考えられる¹⁾。

世界的には、上述の年間 50 万人以上が子宮頸癌に罹患し年間 26 万人が子宮頸癌で死亡する。発症数・死亡数とも、世界で最も多いのはアフリカで、次いで我々の地域である東アジアである²⁾。世界的には乳癌に続き女性の癌の第 2 位が子宮頸癌である。日本では、年間約 8800 人が罹患し、約 2500 人が子宮頸癌で死亡している。ここで最も大きな問題は年齢別罹患率である。この 20 年間で子宮頸癌の罹患ピークはあきらかに若年化している。1985 年当時は 60-65 才が最も罹患者が多かったが、20 年後の 2005 年には 30-40 才が罹患ピークに前倒しになっている (図 1)。

その理由は、性活動の若年齢層化が大きな要素と考えられ、それに若年層における癌検診の受診率の低さが拍車をかけている。

子宮頸癌ではハイリスク HPV がほぼ 100% に検出され、

連絡先

〒 113-8655

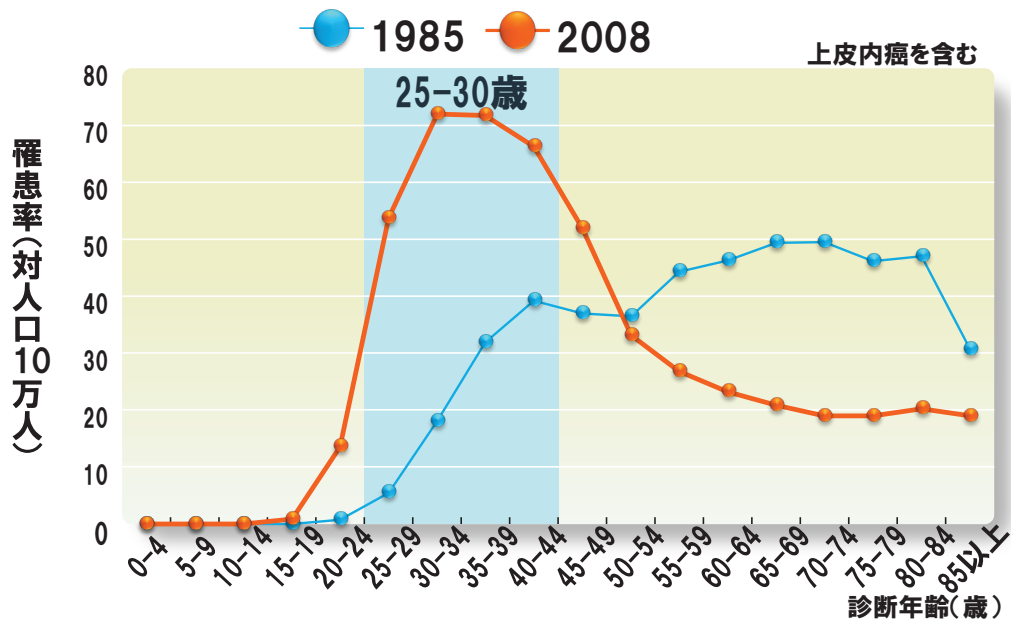
東京都文京区本郷 7-3-1

東京大学大学院医学系研究科生殖発達加齢医学専攻産婦人科学講座

TEL: 03-3815-5411

FAX: 03-3816-2017

E-mail: kkawana-ky@umin.org



国立がんセンターがん対策情報センター 地域癌登録全国推計によるがん罹患データ(1975年~2008年)

図1 日本における年代別子宮頸癌罹患率

そのうち約45%はHPV16型、15%はHPV18型が起因ウイルスである。HPV16, 18感染による子宮頸癌の相対危険度はHPV陰性と比べて200~400倍である²⁾。またHPV16, 18は感染してから子宮頸癌に至るまでに要する時間が他のハイリスクHPVと比べて短いと考えられ、そのために20-40才代で発症する若年子宮頸癌ではHPV16, 18の検出頻度が高くなる。子宮頸癌で検出されるHPVタイプとしては、HPV16, 18以外ではHPV52, 58, 31, 33型が続く。

HPVによるウイルス発癌は、子宮頸癌以外にも起こりうる(図2)。HPVによる発癌はHPV16, 18を中心として多くの癌で報告されている。肛門癌の95%、咽頭癌の63%、陰茎癌の35%はHPVによる発癌と考えられ、その多くは男性患者である³⁾。HPVによる発癌は男性にも関係があることがわかる。

HPVを標的にした2つの新たな子宮頸癌治療

HPVとの関連性が最も深く、罹患患者数が最も多いのは子宮頸癌である。そこで、我々は子宮頸癌をモデルにしたHPV発癌に対する新しい治療を開発しようと試みている。すなわち、HPVのウイルス分子を標的にした一種の分子標的治療薬の開発である。本稿では、その中に2つを紹介したい。

1つは、抗HPV細胞性免疫を誘導してHPV発現子宮頸癌細胞を免疫学的に排除する癌免疫療法である。これによりCINや子宮頸癌の治療効果を期待する薬物療法である。

間接的ではあるが、HPVウイルス分子に対する免疫を介した分子標的治療ともいえる。免疫誘導のワクチンとも言えるため、HPV治療ワクチン、癌ワクチンとも呼ばれる。これまでの先行研究との違いは、我々の免疫療法は、粘膜免疫を介した抗HPV細胞性免疫を誘導する作戦である点にある。癌免疫療法としては初の試みであり、既に第III相に相当する自主臨床試験を実施中である。

もう1つは、HPV発癌のメカニズムに基づいて、発癌に必須のウイルス癌蛋白質であるE6, E7の発現を抑制することで子宮頸癌細胞の増殖を止めアポトーシスに導く薬物療法である。我々は、核酸医学のsiRNAをE6/E7の転写産物に効かせることとした。癌蛋白質を阻害する文字通り分子標的治療薬と言える。ただし、標的分子が外来性のウイルス蛋白質であることから、普通の分子標的治療薬とは異なり正常組織への影響が低いメリットがある。siRNAを用いたウイルス遺伝子の転写抑制は、invitroの培養細胞では容易に観察できるが、ヒトへ応用するためにはドラッグデリバリーの問題があった。そこで、我々は、高分子ミセルでsiRNAを内包する薬剤を作成した。

HPVを標的とした癌免疫療法

HPVのウイルス発癌である子宮頸癌は、HPV分子という明確な標的分子がある。その中で子宮頸癌に恒常的に発現しているのが、癌蛋白質のHPV E6, E7蛋白質である⁴⁾。その中でE7は、癌患者などにE7抗体が存在することからヒトにおける抗原性が証明されている。一方、E6抗体

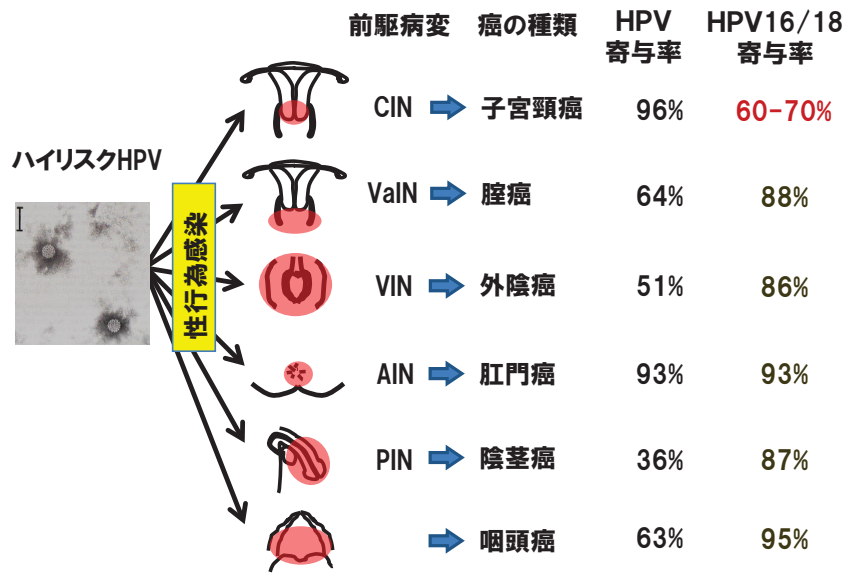


図2 HPV感染と深い関連を持つ癌と前駆病変

はヒトでは検出されず、E6の抗原性はヒトでは弱い。以上のことから、HPV E7はHPV分子に対する癌免疫療法の標的としては最も有力な癌抗原と言える。さらには、子宮頸癌（浸潤癌）のみならず、前駆病変であるCIN2-3においても、抗E7ポリクローナル抗体による免疫染色では病変に一致して強い染色を示し、E7がCIN2-3で恒常的に強発現していることがわかっており、CIN2-3に対する癌免疫療法の標的にもなっている^{5,6)}。表1には、海外で実施されたHPVを標的とした子宮頸部病変に対する癌免疫療法の臨床試験の一覧を示す⁷⁻¹⁴⁾。これまでのHPV標的癌免疫療法の大部分はE7を癌抗原として標的分子としている。

抗HPV細胞性免疫がCIN病変の制御に重要であることは、HIV患者やステロイド常用者のような細胞性免疫が不全状態にある患者ではCIN病変が進行しやすいというデータをもとに推察されている。しかし、末梢血中の抗HPV細胞性免疫とCIN病変退縮の相関性は必ずしもはっきりしない¹⁵⁻¹⁶⁾。HPVを標的とした癌免疫療法は、この抗HPV細胞性免疫能を、ワクチン抗原を投与することで強制的に誘導もしくは増強しHPV陽性腫瘍細胞を排除するものである。

先行臨床試験と我々の研究の最大の違いは、投与経路である。これまでの研究では、E7特異的細胞性免疫(E7-specific cell-mediated immunity; E7-CMI)を末梢血中に誘導するため、筋注もしくは皮下注でワクチン抗原を投与していた。実際これらの先行研究では、いずれも末梢血中にE7-CMIが誘導されている。しかし、その免疫応答と臨床の有効性が必ずしも相関しておらず、しかも有効性も低いことから臨床応用された薬剤は1つもない。我々は、これまでの全

身性免疫を誘導するシステムでは子宮頸部粘膜に有効な抗HPV細胞性免疫が誘導されていないのではないかと考えた。すなわち、CIN2-3を制御するためには、粘膜免疫に特異なE7-CMIを誘導し、粘膜面での誘導能を観察する必要があると考えた。

粘膜免疫を介した癌免疫療法

生殖器を含む粘膜においては、独特の免疫防御機構が構築され、粘膜免疫システムという(図3)。その粘膜免疫システムの中心は粘膜リンパ組織 mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) である。腸管粘膜ではパイエル板に代表されるGALT (gut-associated) が存在する¹⁷⁾。これら全身に配備されているMALTは、ネットワークを形成し、異物抗原の認識記憶を共有している。ネットワークシステムを成立させているのが粘膜リンパ球である(図3)。粘膜リンパ球は、integrin $\beta 7$ という特有の表面抗原を持っている。粘膜リンパ球は、末梢血流を通して、粘膜だけに浸潤していけるようになっている(ホーミング homing と呼ぶ)。このhoming機構によって全身の粘膜に同じメモリーを持った粘膜リンパ球が巡ることができる¹⁸⁾。

ところが、子宮頸部を含む生殖器粘膜にはMALTに相当する組織は存在しない。これは、MALTの存在によって異物である精子や胎児成分に対する強い免疫応答が実効されてしまうことを避けるための結果かも知れない。生殖器粘膜は、実効組織にはなりうるが、誘導・メモリー組織であるMALTは存在せず、腸管粘膜にあるGALTが代用していると考えている。子宮頸部に存在する粘膜リンパ球は女性生殖器の感染防御機構の実効部隊として免疫排除に中心的役割を担っている。著者らは、ヒト(CIN患者)

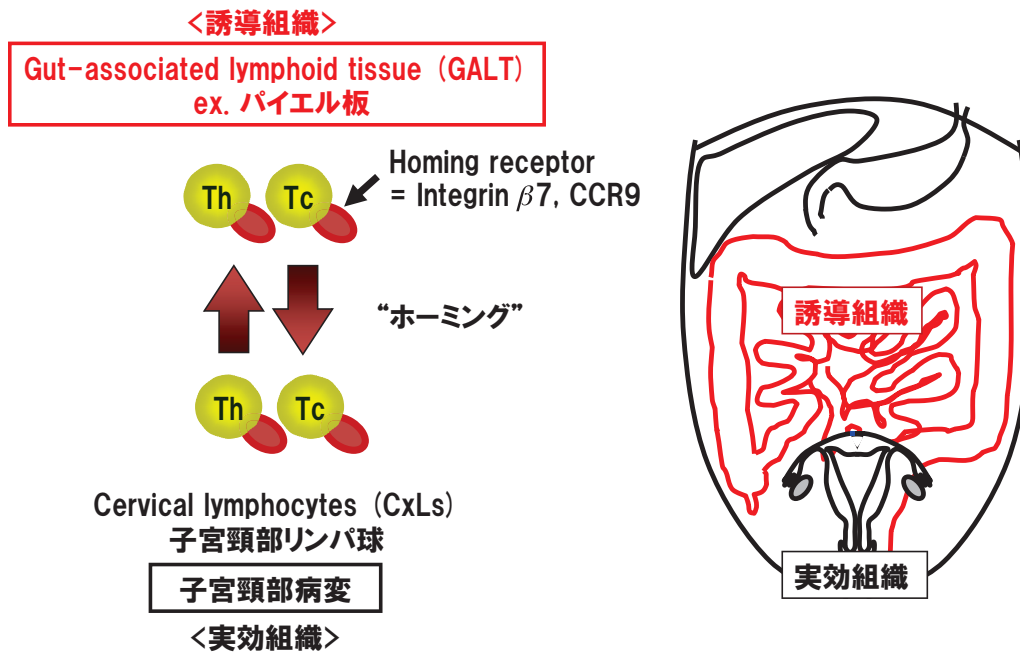


図3 子宮頸部における粘膜免疫システム

の子宮頸部の粘膜リンパ球を子宮頸癌検診の擦過細胞を用いて採取することに成功し、これを子宮頸部リンパ球 (cervical lymphocyte: CxLs) と呼んでいる。子宮頸部リンパ球の約 20-40% は、腸管由来の integrin $\beta 7$ + T 細胞であることを見いだした¹⁹⁾。

粘膜免疫を介した E7 標的癌免疫療法

子宮頸部粘膜免疫にとってのメモリー組織である GALT を直接的に抗原刺激するため、著者らは経腸管投与による E7 標的癌免疫療法を考えた。そこで注目したのが乳酸菌 *Lactobacillus casei* である。まず乳酸菌食品として広く食経験のある安全性の高い菌種である。もう一点は、乳酸菌は oral tolerance によって腸管内で免疫寛容を獲得している菌体であり、免疫排除を受けないというメリットがある。

我々は、ジェノラック BL (株) 社と共同で、乳酸菌 *Lactobacillus casei* に HPV16 型 E7 (全長) を提示させた HPV16E7 発現乳酸菌 (GLBL101c) を製剤化した。安全性の確保の工夫として、E7 の癌原性を潰すために E7 の Rb 結合領域にアミノ酸変異を入れ、乳酸菌の加熱処理によって死菌化させた。1 菌体の乳酸菌に約 1000 分子の E7 が発現している。GLBL101c をマウスに経腸管接種するワクチン実験を行ったところ、マウスの腸管由来の粘膜リンパ球において、E7 に対する細胞傷害性 CD8+ CTL 細胞の誘導と細胞傷害活性が確認された²⁰⁾。さらに我々は、E7 ワクチンを用いて、筋注・皮下注・経口投与の 3 群で、全身性と粘膜免疫の E7-CMI 誘導能を比較した。全身性免疫誘導の代表である脾臓リンパ球に比して、腸管粘膜リンパ

球における HPV E7 特異的 IFN γ 産生細胞数は、GLBL101c 経口投与群が最も高く、筋注群の 10 倍、皮下注群の 2 倍となった。GLBL101c 経口投与群は粘膜免疫誘導に優れていることがわかった。我々はすでに子宮頸部リンパ球の一部が腸管由来であることをヒトで証明しており、腸管粘膜の E7 特異的 IFN γ 産生細胞が子宮頸部粘膜までホーミングすると期待された。

CIN3 に対する GLBL101c の探索的 I/IIa 相臨床試験

著者らは、GLBL101c の安全性と子宮頸癌前癌病変 (CIN3) に対する臨床効果を調べる第 I/IIa 相の自主臨床試験を実施した。GLBL101c は、死菌化した E7 発現乳酸菌 (*Lactobacillus casei*) であり、250mg/cap のカプセル剤でヒトに投与可能な GMP グレードで製造されている。カプセルは腸溶化カプセルであり、胃は通過して腸内において溶けて乳酸菌粉末が腸内に撒かれるカプセルである。試験は、東京大学医学部研究倫理審査委員会の承認のもと実施された。

対象は HPV16 型単独陽性の CIN3 患者 17 例で、GLBL101c を 1, 2, 4, 8 週に 5 日間/週、1 日 1 回内服する。最少量の投与から始め投与量を 1cap \rightarrow 2cap \rightarrow 4cap \rightarrow 6cap/日と増量した。至適投与量を設定し 7 例を追加した。全 17 例について、grade2 以上の有害事象はなく、Grade1 の有害事象も因果関係があるものはなかった。免疫学的評価としては、CxL と末梢血 (PBMC) 中の E7 特異的 IFN γ 産生細胞 (E7-CMI) を測定した。17 例全例で、GLBL101c 投与前には、PBMC, CxL とともに E7-CMI が明らかに検出さ

表 1. HPV を標的とした免疫療法の臨床試験

試験	標的分子	ワクチンキャリアー	接種法	対象疾患	開発機関
Ph-I/II	L1, E7	キメラVLP	皮下注	CIN2-3	NCI
Ph-II	E7	Hsp融合蛋白質	皮下注	CIN2-3	Stressgen社
Ph-I/II	E6, E7	ワクチニアウイルス	皮下注	頸癌	Xenova社
Ph-II	L2, E6, E7	L2E6E7融合蛋白質	筋注	CIN2-3	Xenova社
Ph-IIb	E6, E7	プラスミドDNA	筋注	CIN2-3	Zycos社
Ph-IIb	E7	ワクチニアウイルス	筋注	CIN2-3	Roche社
Ph-I	E6, E7	プラスミドDNA	筋注	CIN2-3	VGX社
Ph-I/IIa	E7	乳酸菌	経口	CIN3	著者

れた例はなかった。GLBL101c 内服後に PBMC で E7-CMI が上昇した例はほとんどなかった。一方、CxL 中の免疫学的有効性 (E7-CMI) が高い症例では、CIN3 に対する治療効果が示された。免疫学的な薬理効果と病理学的な臨床効果の間に相関性が示されたのは世界初である。特に、4cap/日 (1g/日) 投与群の 10 例では、投与開始から 6 か月間で CIN1 が 4 例、CIN2 が 4 例となり、奏効率 (CR+PR) が 80% となった。一般に CIN3 → CIN2 への 6 か月観察後の自然退縮率は 15% であることから、GLBL101c 内服が病変の退縮に寄与している可能性が高いと考えている。病変が CIN1-2 に退縮した 9 例は追跡中であるが、追跡期間 14-33 か月で 1 例も CIN3 の再発を認めていない。

この第 I/IIa 相自主臨床試験の結果をうけて、我々は昨年度から第 IIb 相の自主臨床試験を企画した (厚労省科学研究費補助金 (医療技術実用化総合研究事業) による)。プラセボを置き、HPV16 型単独陽性の CIN2 を対象にしたランダム化二重盲検比較試験の設定で実施中である。これによって GLBL101c の有効性が検証できると考えている。

HPV を標的とした核酸医学の応用

HPV 癌蛋白質で子宮頸癌の不死化、抗アポトーシス作用に深く寄与する癌遺伝子 E6 の発現を阻害するための siRNA は以前から HPV 分子標的治療薬として期待されてきた。しかし、核酸医学ではドラックデリバリーシステム (DDS) が大きな壁となっている。我々は東京大学臨床医学の片岡教授、宮田准教授との共同研究によってナノ技術を用いた高分子ミセルによって E6/E7 を標的とした siRNA (E6/E7 siRNA) を作製した。HPV16, 18 の E6/E7

siRNA は既報に基づき作成した。

RNA はマイナス電荷をもつことからプラス電荷を帯びさせたポリエチレングリコール (PEG) とイオン結合させることで、siRNA を内包できる。PEG の外郭側には RGD を搭載させ、RGD は腫瘍血管や腫瘍細胞に特異的に発現しているインテグリン $\alpha V\beta 3$ という表面抗原と結合して腫瘍に特異的に運搬させることとなる²¹⁾。この siRNA が内包された高分子ミセルは東京大学臨床医工学講座の宮田准教授より供与された。

E6/E7 siRNA 内包高分子ミセルは、HPV16 と HPV18 について作製した。DDS の検討を行う前に、まず in vitro での siRNA の E6 発現阻害効果を SiHa 細胞 (HPV16 陽性)、HeLa 細胞 (HPV18 陽性)、C33A 細胞 (HPV 陰性) を用いて検討したところ、40-50% の増殖抑制能が見られた。また HPV-negative の子宮頸癌細胞には効果を示さず、この抑制効果が HPV タイプ特異的であることもわかった。さらに、これらの細胞をヌードマウス BALB/c に移植し腫瘍を形成させ、3mm 角の腫瘍を別のマウス皮下に移植し、その腫瘍径を経時的に追跡した。移植後 5 日目から、E6/E7 siRNA 内包高分子ミセルもしくは control siRNA を内包したコントロール高分子ミセルを day0, 1, 3, 4, 7, 8 日の 6 回尾静脈から静脈投与行い、腫瘍径の増殖カーブを検討した。Day12 の段階で、16 型 E6/E7 siRNA 内包高分子ミセルは SiHa 細胞の腫瘍の、18 型 E6/E7 siRNA 内包高分子ミセルは HeLa 細胞の腫瘍の腫瘍増殖を劇的に抑えた (control との比較で、SiHa 細胞腫瘍は約 80% 減少、HeLa 細胞腫瘍は約 70% 減少)。腫瘍内における E6/E7 mRNA レベルを確認したところ、E6/E7 siRNA 高分子ミセル群で有意に mRNA レベルが低下していた。摘出腫瘍

において、E6/E7 siRNA 高分子ミセルの投与量に依存して、p53 がレスキューされていた。

siRNA は癌遺伝子抑制のツールとして期待が大きいですが、*in vivo* で抗がん剤として静脈投与しても、RNase、マイナスイオンによる細胞への取り込み阻害、貪食細胞への取り込み、等によってドラッグデリバリーが機能しない。我々はマウス担癌子宮頸癌への抗腫瘍効果は、DDS による生体への静脈投与であり、実現性のある投与方法であり、今後、HPV を標的とする分子標的治療薬に発展する可能性があると考えられた。

終わりに

本稿の内容は、第 61 回日本ウイルス学会 (2013 年 11/10-12, 於神戸国際会議場) のシンポジウム 1 において発表した内容と同様である。論文投稿中のため、図表の公表は割愛させていただいた。本学会において、このような貴重な発表の機会をお与えいただいた学会長の堀田博先生、座長の労をお執りいただいた清野透先生、松岡雅雄先生に、この場を借りて深く感謝申し上げます。

文献

- 1) zur Hausen, H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2: 342-350, 2002
- 2) Bosch FX, et al.: Human papillomavirus and cervical cancer – burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 31: 3-13, 2003.
- 3) Human papillomavirus, *Nature Outlook*, 488: 30 Aug, 2012
- 4) Ressler S, Scheiden R, Dreier K et al., High-risk human papillomavirus E7 oncoprotein detection in cervical squamous cell carcinoma, *Clin Cancer Res*, 13: 7067-7072, 2007
- 5) Kawana K, Yasugi T, Taketani Y. Human papillomavirus vaccines: current issues and future: Review. *Indian J Med Res* 2009;130:341-347.
- 6) Kanodia S, Da Silva DM, Kast WM, Recent advances in strategies for immunotherapy of human papillomavirus-induced lesions. *Int J Cancer* 2008;122:247-259
- 7) Einstein MH, Kadish AS, Burk RD, et al. Heat shock fusion protein-based immunotherapy for treatment of cervical intraepithelial neoplasia III. *Gynecol Oncol* 2007; 106:453-460
- 8) Roman LD, Wilczynski S, Muterspach LI, et al. A phase II study of Hsp-7 (SGN-00101) in women with high-grade cervical intraepithelial neoplasia. *Gynecol Oncol* 2007;106:558-566
- 9) Kaufmann AM, Nieland JD, Jochmus I, et al., Vaccination trial with HPV16 L1E7 chimeric virus-like particles in women suffering from high grade cervical intraepithelial neoplasia (CIN 2/3). *Int J Cancer* 2007;121:2794-2800
- 10) Davidson EJ, Boswell CM, Sehr P, et al. Immunological and clinical responses in women with vulval intraepithelial neoplasia vaccinated with a vaccinia virus encoding human papillomavirus 16/18 oncoproteins. *Cancer Res* 2003;63:6032-6041
- 11) Fiander AN, Tristram AJ, Davidson EJ, et al., Prime-boost vaccination strategy in women with high-grade, noncervical anogenital intraepithelial neoplasia: clinical results from a multicenter phase II trial. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16:1075-1081
- 12) Garcia F, Petry KU, Muterspach L, et al. ZYC101a for treatment of high-grade cervical intraepithelial neoplasia: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol* 2004;103:317-326
- 13) Brun JL, Dalstein V, Leveque J, et al. Regression of high-grade cervical intraepithelial neoplasia with TG4001 targeted immunotherapy. *Am J Obstet Gynecol* 2011;204(2):169
- 14) Trimble CL, Peng S, Kos F, et al. A phase I trial of a human papillomavirus DNA vaccine for HPV16+ cervical intraepithelial neoplasia 2/3. *Clin Cancer Res* 2009;15(1):361-367
- 15) Nakagawa M, Stites DP, Farhat S et al., Cytotoxic T lymphocyte responses to E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16: Relationship to cervical intraepithelial neoplasia. *J Infect Dis*, 175: 927, 1997.
- 16) Trimble CL, Peng S, Thoburn C, Kos F, Wu TC. Naturally occurring systemic immune responses to HPV antigens do not predict regression of CIN2/3. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:799-803.
- 17) Kunisawa J, Kiyono H: A marvel of mucosal T cells and secretory antibodies for the creation of first lines of defense. *Cell Mol Life Sci*. 2005;62:1308-21.
- 18) Ericsson A, Svensson M, Arya A, Agace WW: CCL25/CCR9 promotes the induction and function of CD103 on intestinal intraepithelial lymphocytes. *Eur J Immunol* 2004; 34:2720-2729.
- 19) Kojima S, Kawana K, Fujii T, et al., Characterization of intraepithelial lymphocytes (IELs) residing in the cervical mucosa of patients with human papillomavirus (HPV)-infected intraepithelial neoplastic lesions. *Am J Reprod Immunol*, in-press, 2011
- 20) Adachi K, Kawana K, Yokoyama T, et al., Oral immunization with *Lactobacillus casei* vaccine expressing human papillomavirus (HPV) type 16 E7 is an effective strategy to induce mucosal cytotoxic lymphocyte against HPV16 E7. *Vaccine*, 28: 2810-2817, 2010
- 21) Christie RJ, Matsumoto Y, Miyata K, Nomoto T, Fukushima S, Osada K, Halnaut J, Pittella F, Kim HJ, Nishiyama N, Kataoka K. Targeted polymeric micelles for siRNA treatment of experimental cancer by intravenous injection. *ACS Nano*. 26;6(6): 5174-89, 2012

Development of new therapies targeting human papillomavirus molecules

Kei KAWANA, MD., PhD.

Associate Professor

Department of Obstetrics and Gynecology, Graduate School of Medicine,

The University of Tokyo

7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, 113-8655 Tokyo

Email: kkawana-tky@umin.org

High-risk HPV E6 and E7 oncogenes are an ideal targeting gene for treatment of cervical cancer. In this paper, we introduce researches on cancer-immunotherapy targeting HPV E7 through mucosal immunity and E6/E7-targeting siRNA therapy using PEGylated polymeric micelles. Therapeutic HPV vaccine has also attracted attention as a cancer immunotherapy agent. We have found homing of Integrin $\beta 7$ -positive intestinal mucosal lymphocyte on the cervical mucosa. In this study, we generated a novel therapeutic vaccine; an HPV E7-expressing *Lactobacillus casei* (LacE7) to induce anti-HPV cellular immunity directly to intestinal mucosa. Cervical lymphocytes (CxLs) and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) were counted E7 specific $\text{INF}\gamma$ -producing cells (E7 cell-mediated immune responses: E7-CMI) by ELISPOT assay. We confirmed induction of anti-E7 $\text{INF}\gamma$ -producing cells in the cervix lymphocytes obtained from these patients. E6/E7 siRNA therapy requires a delivery system for its systemic intravenous administration. We here demonstrated that intravenous injection of HPV16 or 18 E6/E7 siRNA polymeric micelles suppressed excellently an increase in size of subcutaneous tumor formed by SiHa or HeLa cell, respectively. Our drug-delivery technology using polymeric micelles enabled the successful systemic administration of siRNA to exhibit anti-tumor effect.

