

前立腺癌遺伝子治療の現状と展望

那須 保友, 公文 裕巳

キーワード：前立腺癌，遺伝子治療，アデノウイルスベクター

はじめに

現在，癌に対する遺伝子治療の基礎ならびに臨床研究は，世界中で精力的に実施されており，前立腺癌もその例外ではない．前立腺癌は，病巣へのアクセスが容易であること，治療効果の判定が腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（Prostate specific antigen：PSA）を用いることで精度よく行える点より遺伝子治療研究を实践するのに最も適したターゲットである．前立腺癌に対する遺伝子治療研究の進む方向は癌の遺伝子治療全体の進む方向を示しているといっても過言ではない．

前立腺癌に対する単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Herpes simplex virus-thymidine kinase：HSV-tk）遺伝子とガンシクロビル（Ganciclovir：GCV）を用いた“自殺遺伝子治療”の米国での第1相臨床試験の結果は，前立腺癌のみならず，癌の遺伝子治療そのものの進展における重要な一里塚となった¹⁾．岡山大学泌尿器科ではこの第1相臨床試験の実施施設である米国ベイラー医科大学との共同研究として本邦初の前立腺癌遺伝子治療臨床試験を実施した．

本稿では，当院で実施されている“自殺遺伝子治療”についてその現況と展望を概説することで前立腺癌に対する遺伝子治療に関する現況と展望とした．

癌遺伝子治療の戦略

癌の遺伝子治療における方法の分類と世界における前立腺癌を対象としたプロトコールの数を表1に示すとともに以下に主な遺伝子治療の概略について述べる．

1) 癌細胞への遺伝子導入による殺細胞効果（自殺遺伝子治療）

遺伝子を導入された細胞が何らかのメカニズムにより死に至るような方法を自殺遺伝子治療（suicide gene therapy）と呼ぶ．導入される遺伝子は，本来人間には無く，ウイルスや細菌に存在する遺伝子で，かつプロドラッグの形では細胞毒性を有しない薬剤を，細胞毒性を有するよう活性化させる機能を有するものである．この遺伝子を癌細胞に導入して，プロドラッグを投与すると，その遺伝子が発現している癌細胞においてプロドラッグは細胞毒性を有する活性型に変化し，癌細胞は死に至る．

代表的な自殺遺伝子治療は，単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Herpes simplex virus-thymidine kinase：HSV-tk）遺伝子と抗ウイルス剤であるガンシクロビル（Ganciclovir：GCV）の組み合わせである．HSV-tk 遺伝子は，単純ヘルペスウイルスに存在するチミジンキナーゼをコードしており，この酵素は哺乳動物細胞の有するチミジンキナーゼとは異なる基質特異性を有している．その基質特異性の違いを利用して開発された抗ウイルス薬である GCV をプロドラッグとして用いられる．遺伝子導入された細胞内で発現した HSV-tk は GCV を特異的にリン酸化し，一リン酸化 GCV がつくられる．その後細胞内のチミジンキナーゼにより段階

表1 癌に対する遺伝子治療の方法と前立腺癌遺伝子治療のプロトコール数

	プロトコール数
1. 癌細胞への遺伝子導入による殺細胞効果 (自殺遺伝子治療)	
HSV-TK 遺伝子/ganciclovir	6 *
Cytosine diaminase/ 5-Fluorouracil	0
2. 癌細胞への遺伝子導入による脱癌化	
アンチセンス c-myc 遺伝子	1
癌抑制遺伝子 (p53)	2
3. 抗腫瘍免疫能の増強 (免疫遺伝子治療)	
サイトカイン腫瘍内投与	2
遺伝子導入樹状細胞投与	2
腫瘍ワクチン	12
* 岡山大学のプロトコールを含む	計 25

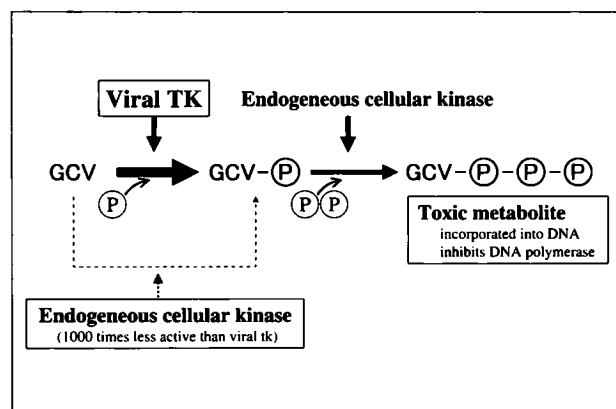


図1 HSV-tk and GCV による自殺遺伝子治療
 GCV : ganciclovir, tk : thymidine kinase, P : phosphate
 遺伝子導入された細胞内で発現した HSV-tk は GCV を特異的にリン酸化し、一リン酸化 GCV がつくられる。その後細胞内のチミジンキナーゼにより段階的にリン酸化され最終的には3リン酸化 GCV となり、細胞の持つ DNA ポリメラーゼを阻害したり、DNA に取り込まれ DNA の伸張を阻害し、細胞をアポトーシスに導く。遺伝子非導入細胞では、このリン酸化反応の律速段階である最初のリン酸化反応が起こらないため、GCV は活性化されず細胞毒性を示すことはない。

的にリン酸化され最終的には3リン酸化 GCV となり、細胞の持つ DNA ポリメラーゼを阻害したり、DNA に取り込まれ DNA の伸張を阻害し、細胞をアポトーシスに導く(図1)。遺伝子非導入細胞では、このリン酸化反応の律速段階である最初のリン酸化反応が起こらないため、GCV は活性化されず細胞毒性を示すことはない。

一方、本治療法において最も興味深い点は、自殺遺伝子が導入されていない周りの腫瘍細胞も死滅する現象 (bystander effect : バイスタンダー効果) が認められることである²⁾。このバイスタンダー効果のメカニズムは、いまだ充分には解明されていない部分もあるが、遺伝子導入細胞で産生される細胞障害性物質が、gap junction を介して周囲の遺伝子非導入細胞に伝播されることにより、これらの細胞も死滅すると考えられている²⁾。このことは、かならずしもすべての癌細胞に遺伝子が導入されなくとも治療効果が得られるということを意味している。さらに、腫瘍特異的免疫の活性化も *in vivo* におけるバイスタンダー効果の発現に関与していると考えられている。特に、局所へのベクター投与後、局所における抗腫瘍効果のみならず、全身に対する治療効果が誘導されることが実験的に確認されており、局所におけるバイスタンダー効果に対応して遠隔部位におけるバイスタンダー効果 (Distant bystander effect) と称され、細胞性免疫を含めた種々の免疫機構の賦活化が関与していることが明らかになっている^{3,4)}。

2) 遺伝子の導入による脱癌化やアポトーシスの誘導

P53や Rb などの癌抑制遺伝子に変異、欠損が存在している腫瘍に正常の癌抑制遺伝子を導入し癌細胞を正常細胞に戻したり、アポトーシスに誘導しようとする方法である。本院、第1外科で実施されている肺癌遺伝子治療は P53遺伝子を組みこんだアデ

ノウイルスベクターを病巣に注入する手法を採用している。癌遺伝子に対するアンチセンス配列を有する遺伝子を導入しこれらの遺伝子からのタンパクの発現を抑制しようとする方法もある。

3) 抗腫瘍免疫能の増強 (免疫遺伝子治療)

癌細胞の免疫原性を高め、宿主の抗腫瘍免疫 (主に細胞性免疫) を増強することを目的とした治療法である。いわゆる腫瘍ワクチン療法のひとつであり、患者の癌細胞を手術等にて分離し、免疫応答を増強させる作用を有する種々のサイトカイン遺伝子を導入し、増殖能を失わせるために放射線照射を行った後に再び患者に接種する方法である (ex vivo 法)。腫瘍組織に直接遺伝子ベクターを注入する手法も用いられる (in vivo 法, In situ gene therapy)。導入するサイトカインとしては IL-2 (Interleukin-2)、IL-12 (Interleukin-12)、GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor)、co-stimulatory factor などが用いられる。

前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究の現状と展望

米国、日本において実施されている前立腺癌に対する遺伝子治療臨床プロトコルは25登録されている⁵⁾⁶⁾。自殺遺伝子治療と免疫遺伝子治療が多くのプロトコルを占めている。とりわけ米国ベイラー医科大学で実施されている自殺遺伝子治療の良好な結果は世界的に注目されており、本邦では岡山大学において同様の臨床研究が開始されている。神戸大学においても近々実施承認がなされる予定である。

ベイラー医科大学では内分泌未治療かつ放射線治療後の遠隔転移を有しない局所再発前立腺癌患者を対象とし、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターと GCV を用いた第1相臨床試験が実施された (18例)¹⁾。また試験終了後、引き続き症例の集積が行われた (合計36例)。その結果、試験の主な目的であるアデノウイルスベクターを前立腺癌患者に局所投与することならびに GCV を投与することの安全性が確認された。さらに腫瘍マーカーである PSA の低下を示す症例を認め、臨床的有効性が確認されたとともに、複数回投与の安全性と有効性さらにはベクターの局所投与 (in situ gene therapy) により T 細胞を中心とした全身の免疫担当細胞が活性化され

ることも確認された (表2)⁷⁾。自殺遺伝子治療の臨床的有効性を示した報告として注目に値する。特に、in situ gene therapy による全身の免疫賦活作用の存在は、全身投与可能かつ安全なベクターがいまだに臨床上使用できない現状においては、転移を有する進行癌がその治療対象となり得ることを示唆している。

岡山大学泌尿器科では米国ベイラー医科大学との共同研究として同様の試験を実施している。その対象は、日本における前立腺癌患者と治療法の特徴を反映して、内分泌療法 (抗アンドロゲン療法) 抵抗性局所再発前立腺癌である⁸⁾。手技的には超音波ガイド下にアデノウイルスベクターを癌病巣に注入した後、プロドラッグである GCV を投与することで治療効果を得ることが可能であり、きわめて簡便である (図2)。また考えられる副作用も他の治療法と比較して軽微であることが予想され、患者の QOL を損なう可能性は極めて低い治療法である可能性が高い。本遺伝子治療臨床研究は、平成11年1月学内の遺伝子治療臨床研究審査委員会に提出され7月に実施承認を得た後、国への申請が行われ、平成12年6月実施承認を受けた。その後第一例目が本邦初の前立腺癌遺伝子治療として平成13年3月に実施された (表3、図3)。現在までに3例実施されその安全性と臨床効果が確認されている。当院ではさらに高用量での投与を実施しその安全性と臨床効果を確認する事で試験を終了する予定であり、その後は以下に述べる次のステップに移る予定である。

表2 前立腺癌自殺遺伝子治療

— 米国ベイラー医科大学における36例の結果 —	
1) 低い毒性	
2) 低い抗アデノウイルス抗体価	
3) 28例 (78%) において PSA の低下を認める (平均28%の PSA 減少率 5~84%)	
4) PSADT (doubling time) の有意な延長 (P<0.001) (治療前9.8ヶ月 治療後13.3ヶ月)	
5) 反復投与にても “PSA response” あり	
6) 末梢血における CD8 ⁺ T cell の活性化	
7) 前立腺局所における殺細胞効果と炎症反応の存在	

(文献7)

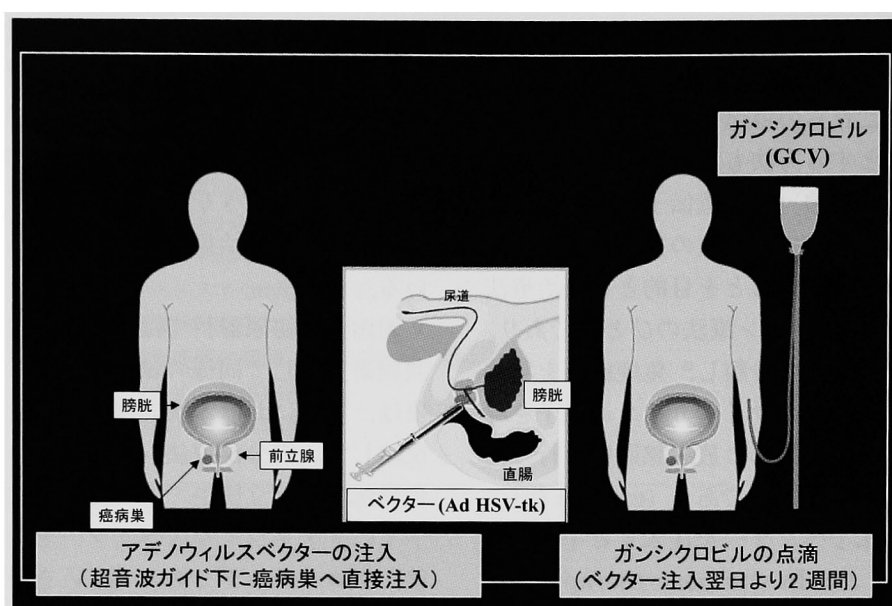


図2 前立腺癌に対する自殺遺伝子治療の実際

経直腸的超音波ガイド下に HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを病巣内に注入致し、翌日よりガンシクロビルの点滴を2週間行う。経直腸的超音波ガイド下に前立腺を穿刺することは、前立腺生検に際し通常一般診療において施行されており、簡便で、極めて侵襲の低い手技である。

表3 申請より実施までの経過

1) 学内委員会における審査:	
平成11年1月27日	申請
平成11年7月16日	実施承認
2) 国における審査	
平成11年9月16日	申請
平成12年6月29日	実施承認
3) 一例目実施までの経過	
平成12年8月	患者の選定
平成13年2月	ベクターの輸入と受け入れ試験
平成13年3月1日	適応判定部会への申請と承認
平成13年3月27日	一例目の実施

強力な抗腫瘍効果を有するサイトカインである Interleukin-12 (IL-12) の遺伝子を組みこんだアデノウイルスベクターを前立腺癌病巣に直接注入する *in situ* gene therapy も同様に全身免疫賦活効果を有することが動物実験にて確認されており⁹⁾、近々米国にて臨床試験が開始される予定であり、当院においても実施申請の準備中である。さらには、自殺遺伝子治療と IL-12 遺伝子治療との併用効果も動物実験において確認されており、臨床試験への発展が期

待されている¹⁰⁾。 *In situ* gene therapy をベースとして局所における殺細胞効果とそれに引き続く全身の免疫賦活作用を誘導し、さらにペプチド療法など他の免疫賦活治療法等を有効に併用することにより、担癌宿主における特異的腫瘍免疫をより確実かつ強力に誘導することを企図した治療法を開発することは、全身投与可能かつ安全なベクターがいまだに臨床使用できない現状においては、数年先に実現可能な最も現実的な手法と考えられている。特にこのことは局所進展癌のみならず転移を有する進行癌もその治療対象となり得ることを示唆しており、近い将来進行前立腺癌に対する新たな治療法が確立されるものと期待される¹¹⁾。

文 献

- 1) Herman JR, Adler HL, Aguilar-Cordova E, Rojas-Martinez A, Woo S, Timme TL, Wheeler TM, Thompson TC and Scardino PT: In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate: a phase I clinical trial, *Human Gene Therapy* (1999) **10**, 1239-49.
- 2) Freeman SM, Abboud CN, Whartenby KA, Packman CH, Koeplin DS, Moolten FL and Abraham GN: The "bystander effect": tumor regression when

2001年(平成13年)3月28日 水曜日

前立腺がん

遺伝子治療スタート

岡山大 国内初、65歳男性に

国内初の前立腺(せき)に就いて二件目。がん遺伝子治療が十七日、岡山大医学部付属病院(岡山市東区)で、九州(福岡市)の男性患者を前に、岡山大で初めての遺伝子治療が行われた。岡山大では、がん遺伝子治療は、国内で初めての遺伝子治療が行われた。岡山大では、がん遺伝子治療は、国内で初めての遺伝子治療が行われた。

注目集める新手法

がん細胞に情報公開徹底を

今回、岡山大という現象を引き起こした。岡山大医学部付属病院で行った前立腺がん遺伝子治療は、国内で初めての遺伝子治療が行われた。岡山大では、がん遺伝子治療は、国内で初めての遺伝子治療が行われた。



国内初の前立腺がん遺伝子治療(岡山大医学部付属病院)

図3 第一例目の遺伝子治療実施(山陽新聞より)

- a fraction of the tumor mass is genetically modified. *Cancer Research* (1993) **53**, 5274-5283.
- 3) Yamamoto S, Suzuki S, Hoshino A, Akimoto M and Shimada T: Herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated killing of tumor cell induces tumor-specific cytotoxic T cells in mice. *Cancer Gene Therapy* (1997) **4**, 91-96.
 - 4) Barba D, Hardin J, Sadelain M and Gage FH: Development of anti-tumor immunity following thymidine kinase-mediated killing of experimental brain tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (1994) **91**, 4348-5432.
 - 5) Ferrer FA and Rodriguez R: Prostate cancer gene therapy. *Hematology-Oncology Clinics of North America*. (2001) **15**, 497-508.
 - 6) Gingrich JR, Chauhan RD and Steiner MS: Gene therapy for prostate cancer. *Current Oncology Reports*. (2001) **3**, 438-447.
 - 7) Miles BJ, Shalev M, Aguilar-Cordova E, Timme TL, Lee HM, Yang G, Adler HL, Kerns K, Pramudji CK, Satoh and T Thompson TC: Prostate-specific antigen response and systemic T cell activation after in situ gene therapy in prostate cancer patients failing radiotherapy. *Human Gene Therapy*. (2001) **12**, 1955-1967.
 - 8) 那須保友, 公文裕巳: 前立腺癌に対する遺伝子治療—HSV-tk 遺伝子を用いた自殺遺伝子治療—, 医学のあゆみ. (1999) **192**, 184-185.
 - 9) Nasu Y, Bangma CH, Hull GW, Lee HM, Hu J, Wang J, McCurdy MA, Shimura S, Yang G, Timme TL and T Thompson TC: Adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for prostate cancer: suppression of orthotopic tumor growth and pre-established lung metastases in an orthotopic model. *Gene Therapy*. (1999) **6**, 338-49.
 - 10) Nasu Y, Bangma CH, Hull GW, Yang G, Wang J, Shimura S, McCurdy MA, Ebara S, Lee H-M, Timme TL, and Thompson TC: Combination gene therapy with adenoviral vector-mediated HSV-tk + GCV and IL-12 in an orthotopic mouse model for prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. (2001) **4**, 44-55.
 - 11) Thompson TC, Timme TL, Ebara S, Satoh T, Yang G, Wang J, Miles BJ, Ayala G, Wheeler TM and Kadmon D: In situ gene therapy for prostate cancer: immunomodulatory approaches. *Expert Opinion on Biological Therapy*. (2001) **1**, 481-495.