

泌尿器科腫瘍学における分子研究の展望： 遺 伝 子 治 療

神戸大学大学院医学研究科・器官治療医学講座・腎泌尿器科学分野（主任：守殿貞夫教授）

後藤 章暢, 白川 利朗, 和田 義孝
日向 信之, 原 勲, 藤澤 正人
岡田 弘, 荒川 創一, 守殿 貞夫

PROSPECTS FOR MOLECULAR RESEARCH IN UROLOGICAL ONCOLOGY : GENE THERAPY

Akinobu GOTOH, Toshiro SHIRAKAWA, Yoshitaka WADA,
Nobuyuki HINATA, Isao HARA, Masato FUJISAWA,
Hiroshi OKADA, Soichi ARAKAWA and Sadao KAMIDONO

*From the Division of Urology, Department of Organs Therapeutics, Faculty of Medicine,
Kobe University Graduate School of Medicine*

The recent great advances in genetic engineering are now making possible the identification and isolation of the trigger genes of many hereditary illnesses, and the clarification of the relevant molecular mechanisms. The idea that if the genetic abnormalities responsible for illness could be established at a DNA level, treatment at the genetic level repairing damaged genes or supplying absent ones would also be possible was the incentive for the recent boom in gene therapy. Clinical research into gene therapy began in 1990 and currently over 3,000 patient cases are being studied. Some 70% of these are cancer patients. This is not simply because such patients are relatively numerous, but is also a sign of the wish, held earnestly by many researchers and clinicians as well as cancer patients and their families, to at last overcome this intractable disease. Gene therapy, so far conducted mainly in the United States, has hitherto not lived up to initial expectations in its concrete results. The reason for this results mainly in technical factors, such as the rate of success in implanting genes into target cells, the rate of successful expression of the implanted genes, and the successful achievement of specific expression at the target site. Gene therapy in the form of clinical research into renal cancer and lung cancer is now under way in Japan. It is too early at this stage to evaluate this work, but the present paper takes this opportunity to give an outline of gene therapy, and to examine its current state, future prospects and problem areas with particular reference to cancer.

(Acta Urol. Jpn. 47 : 829-832, 2001)

Key words : Molecular research, Urological oncology, Gene therapy, Prostate cancer

緒 言

近年、前立腺癌の発生頻度は増加しており、将来的にはその発生率や死亡率が欧米なみに高くなるのは必至である^{1,2)}。前立腺癌に対して多くのホルモン療法が現在行われている。しかし、近年問題となっているホルモン非依存性の前立腺癌に対する有効な治療法は現在のところない。このような泌尿器腫瘍学における問題点に最近の分子研究の進歩によって遺伝子治療の臨床応用が可能となってきた。遺伝子治療のヒトでの臨床研究は1990年に開始され、現在すでに3,000例を越す患者がエントリーされている。そのうちの約7割が癌患者である。これは単に癌患者が相対的に多いという事実だけではなく、この難治性疾患を何とかして

克服したいという多くの研究者や臨床医、また多くの癌患者とその関係者の切実な想いがそこにある。遺伝子治療はアメリカを中心に行われてきたが、現時点では当初期待したほどの成果にはなっていない。その原因としては、遺伝子を標的細胞に導入する効率、導入された遺伝子の発現効率および標的部位で特異的に発現される手技などの、おもに技術的な問題である。本邦においては既に腎臓癌と肺癌に対する遺伝子治療が臨床研究として始まっている。その評価を論じるには時期尚早であるが、この機会に遺伝子治療の解説と、われわれの遺伝子治療臨床応用に対する取り組みと、癌の遺伝子治療の現状と問題点および展望について述べる。

遺伝子治療の現況

最近の遺伝子工学の著しい進歩によって、多くの遺伝病の原因遺伝子が同定、単離され、それらの病態の分子機構も明らかにされつつある。原因となる遺伝子異常が DNA レベルで明らかにされれば、この異常遺伝子を修復したり、欠損遺伝子を補充すれば、遺伝子レベルでの治療を行えるとの概念が最近の遺伝子治療のブームの契機となった。わが国の遺伝子治療ガイドラインでは、本治療法は「疾病の治療を目的として、遺伝子または遺伝子を導入した細胞を人の体内に投与すること」と定義されている³⁾ つまり遺伝子レベルでの直接的な治療、すなわち遺伝子操作に基づいた治療が遺伝子治療である。遺伝子の欠陥を有する細胞に正常遺伝子を補充するタイプ。あるいは異常な遺伝子産物が病態を引き起こしている場合には、その発現を抑える遺伝子を導入することにより、特定の細胞機能を強化する方法などが考えられている^{2,4)} 遺伝子を使った治療とは、体細胞に遺伝子を導入し、転写、翻訳という経路を通じ蛋白を発現させるという仕組みである。目的とする蛋白を、目的とする細胞において発現させ、何らかの機能を発揮させ、それを治療に結びつけるというように考えれば、遺伝子治療は新しい drug delivery system (DDS) のひとつといえる。既存の DDS との相違は、蛋白質を細胞外から直接細胞内に導入するのではなく、遺伝子という設計図を細胞内にもちこみ細胞内で蛋白を細胞自身に生成させ、治療効果を発現させようとする点である⁵⁾。

Table 1. 遺伝子治療の歴史

1953	DNA が構造決定
1970	Roger らがアルギナーゼ欠損症患者にショープパピローマウイルスを接種
1980	Cline らによるサラセミアに対する遺伝子治療実施
1985	NIH RAC にて遺伝子治療ガイドライン作成
1989	Rosenberg らによるメラノーマ患者への遺伝子標識 TIL 細胞の投与
1990	Blaese らによる ADA 欠損患者への ADA 遺伝子導入リンパ球の投与
1991	Rosenberg らによるメラノーマ患者への TNF 遺伝子導入 TIL 細胞の投与
1993	嚢胞性繊維症患者への CFTR 遺伝子治療の開発。厚生省にて遺伝子治療ガイドラインの作成 (日本)
1994	文部省にて遺伝子治療ガイドラインの作成 (日本)
1995	Orkin-Motulsky report. ADA 欠損症患者への ADA 遺伝子治療開始 (日本, 北大)
1997	米国で RAC 承認の遺伝子治療プロトコル数200を越す
1998	癌に対する遺伝子治療の承認 (日本, 東大医科研, 岡山大学)
1999	アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療で OTC 欠損症患者死亡 (米国, ペンシルベニア大学)
2000	脳腫瘍に対する遺伝子治療開始 (日本, 名古屋大学), 生活習慣病に対する遺伝子治療申請 (日本, 大阪大学)

Table 2. 世界における遺伝子治療臨床プロトコル

遺伝子標識	41 (227)
遺伝子治療	339 (2,946)
癌	240 (2,166)
単一遺伝子病	53 (296)
感染症	31 (412)
その他	15 (66)

(患者数) (9/1999)

これまでの遺伝子治療に関する歴史の抜粋を Table 1 に示す。日本での遺伝子治療はアメリカではこれまで gene therapy という言葉が使われていたが、1997 年頃より molecular medicine に変わり、1998 年頃より 21 世紀には手術治療に代わる手技として多くの期待もあって molecular surgery とも言われた。1999 年のペンシルベニア大学での遺伝子治療による患者の死亡例で遺伝子治療の前途にかけりが見られたが、現在ではこれまで以上に多くの臨床研究が行われるようになってきている。これからの 10 年間の間に、遺伝子治療が何らかの形で一般の医療に組み込まれることは必至であり、泌尿器科領域においてもすでに前立腺癌や腎癌がその対象となりつつある (Table 2)。

遺伝子導入法

遺伝子導入方法は大きく、体外で遺伝子を導入した細胞を体内に投与する ex vivo 法と、遺伝子を直接体内に投与する in vivo 法に大別される。Ex vivo 法の代表は免疫遺伝子治療で、現在日本で行われている p53 を用いた遺伝子治療や自殺遺伝子治療などは in vivo 法に分類される。代表的なウイルスベクターを Table 3 に示したが⁶⁾、各ウイルスベクターには長所および短所があり、ウイルスベクターとしては初期から用いられてきたレトロウイルスベクターと近年主流になってきているアデノウイルスベクターが大半を占めている。アデノウイルスベクターは感染効率がレトロウイルスベクターに比べ高く、導入遺伝子が標的細胞の染色体 DNA のなかに組み込まれず染色体外に存在し、遺伝子導入に際して細胞の分裂増殖を必要としない²⁾ 外来遺伝子を組み込む許容量は、現在普及しているものでは 5~7 kb だが、細胞毒性や免疫原性を抑えた新世代のアデノウイルスベクターでは 10 kb 近くまで外来遺伝子を組み込めるようになっている⁷⁾。

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を Table 4 に示した。この中で、われわれの使用している自殺遺伝子治療をわれわれの基礎結果とともに解説する。自殺遺伝子治療は suicide gene therapy とよばれ、遺伝子

Table 3. ウイルスベクターの特徴

	レトロウイルスベクター	アデノウイルスベクター	AVV ベクター	レンチウイルスベクター
病原性 (野生型ウイルス)	あり	あり	なし	あり
ウイルスゲノム	RNA	二本鎖 DNA	一本鎖 DNA	RNA
ウイルス粒子	不安定	安定	非常に安定	?
分裂細胞への遺伝子導入	可能	可能	可能	可能
非分裂細胞への遺伝子導入	不可能	可能	可能	可能
導入効率 (接着細胞)	良好	非常に良好	良好	良好
<i>In situ</i> 法	不適	適	適	適
染色体への組み込み	あり	なし	一部あり	あり
遺伝子発現	安定?	一過性	やや安定	安定?
病原性/副作用	なし	細胞毒性/遺伝子導入 細胞に対する免疫反応	なし	?
ベクター作製法	確立	ほぼ確立	開発段階	開発段階

Table 4. 癌に対する遺伝子治療戦略

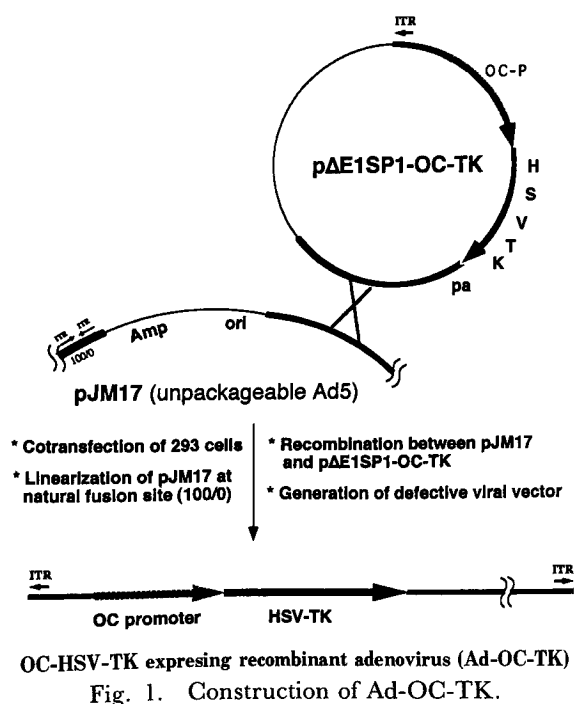
- 1) 癌遺伝子を標的とした遺伝子治療 (アンチセンス遺伝子)
- 2) 癌抑制遺伝子を標的とした遺伝子治療
- 3) 薬物代謝遺伝子を用いた自殺遺伝子治療
- 4) 免疫遺伝子治療
- 5) 化学療法における骨髄幹細胞保護

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治療法である。導入される遺伝子は、本来人間にはなく、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

herpes simplex virus-thymidine kinase (HSV-tk) と抗ウイルス剤である ganciclovir (GCV) の組み合わせである。この方法は遺伝子の導入を受けた癌細胞のみではなく周囲の細胞も死に至らせるという現象 (bystander effect) が認められており、実際の治療にさいして、必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利点がある⁵⁾ われわれは drug delivery system の概念から、ホルモン抵抗性前立腺癌骨転移巣に対する自殺遺伝子治療にオステオカルシン臓器特異性プロモーターを利用した遺伝子治療 (Fig. 1) を米国と共同で開発し、その臨床応用を計画している。骨肉腫や前立腺癌に対する基礎的検討で、既存の遺伝子治療に比べ臓器特異性プロモーターを用いた遺伝子治療の有用性は報告してきた (Fig. 2)⁸⁻¹¹⁾ またこれらの結果を踏まえて、米国では臨床試験が既に始まり、その安全性に関する臨床試験結果が確認されている¹²⁾

今後の展望

泌尿器科領域、特に前立腺癌に限定した場合、その遺伝子治療のゴールはホルモン抵抗性前立腺癌骨転移巣に対する治療である。現在有効な治療法のない疾患に対処できるようにすることで、既存の治療法をしのご治療成績をあげられるようにするには遺伝子治療をベースにした新しい発想の下での治療法の開発が必要である。基礎研究の分野においては、日本人の若き泌尿器科医の活躍もめざましく、今後のより一層のこの分野での進歩は確実視されている。しかし、多くの研究者たちは臨床応用までに至らない研究だけで終わっていることが多く、いかにすばらしい研究を臨床応用まで引っ張っていくかという努力が不足しているように感じられる。今の医療現場の評価が業績主義になっており、基礎研究を臨床応用するための多大な労力を評価できない体制であるため、基礎研究の報告だけで終わってしまっている。From bench side to bed side という言葉が盛んに唱えられるようになってか



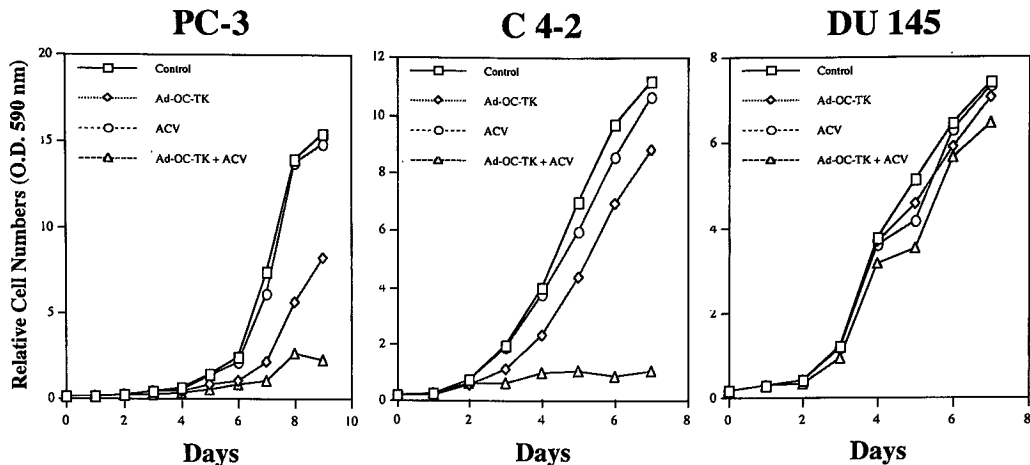


Fig. 2. Cytotoxicity of ACV in Ad-OC-TK-transduced cells. Growth of PC-3 (A) and C4-2 (B) cells infected with Ad-OC-TK was significantly inhibited by addition of ACV (10 μ g/ml). Consistent with low levels of TK activity, growth of DU145 (C) after Ad-OC-TK infection was not affected by addition of ACV to culture medium. Acyclovir treatment or Ad-OC-TK infection alone did not affect proliferation in any cell cultures.

ら5年以上になるのに思うような成果があがっていない。基礎研究と臨床研究の橋渡しとして何が必要で、如何にすべきかは、学会を中心に考えていかなければならない重要課題だと考える。ただ、この分野に入ってくる多くの研究者や臨床家には最終ゴールの夢が必要で、研究者や臨床家たちの大きな夢が1つになったときに始めて新しい治療法が実現できると確信している。

結 語

泌尿器腫瘍学における分子研究の展望として、遺伝子治療を取り上げて、その概略を解説した。またわれわれの試みているホルモン抵抗性前立腺癌骨転移巣に対する遺伝子治療の基礎研究について解説した。

最後に、第50回日本泌尿器科学会中部総会会長である浜松医大泌尿器科藤田公正教授ならびに座長の京都大学泌尿器科小川 修教授、岐阜大学泌尿器科出口 隆教授には、今回発表の機会を与えていただきましたことにあらためて厚く御礼申し上げます。

文 献

- Smith DS and Catalona WJ: The nature of prostate cancer detected through prostate specific antigen based screening. *J Urol* **152**: 1732-1736, 1994
- 後藤章暢, 白川利朗, Chung LWK, ほか: 前立腺癌遺伝子治療の現況と今後の戦略. *癌治療と宿主* **10**: 56-61, 1998
- 厚生科学会議: 遺伝子治療臨床研究に関するガイドライン 1993年4月
- 吉田 修, 守殿貞夫: *Molecular Urology: Gene Therapy* の現状と展望. *泌尿紀要* **43**: 805-807, 1997
- 那須保友: *Gene Therapy 総論: 泌尿器科腫瘍学入門* 富田善彦編, pp 235-251, 日本医学館, 東京, 2000
- 小澤敬也: *ベクター導入方. 遺伝子治療, 開発研究ハンドブック*. 日本遺伝子治療学会編. pp 283-290, エヌ ティー・エス, 東京, 1999
- Bett AJ, Prevec L and Graham FL: Packaging capacity and stability of human adenovirus type 5 vectors. *J Virol* **67**: 5911-5921, 1993
- Ko SC, Cheon J, Kao C, et al.: Osteocalcin promoter-based toxic gene therapy for the treatment of osteosarcoma in experimental models. *Cancer Res* **56**: 4614-4619, 1996
- Cheon J, Ko SC, Gardner TA, et al.: Chemogene therapy: osteocalcin promoter-based suicide gene therapy in combination with methotrexate in a murine osteosarcoma model. *Cancer Gene Ther* **4**: 359-365, 1997
- Shirakawa T, Ko SC, Gardner TA, et al.: In vivo suppression of osteosarcoma pulmonary metastasis with intravenous osteocalcin promoter-based toxic gene. *Cancer Gene Ther* **5**: 274-280, 1998
- Shirakawa T, Gotoh A, Wada Y, et al.: Tissue-specific promoters in gene therapy for the treatment of prostate cancer. *Mol Urol* **4**: 73-82, 2000
- Koeman KS, Kao C, Ko SC, et al.: Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis. *World J Urol* **18**: 102-110, 2000

(Received on September 18, 2001)
(Accepted on September 18, 2001)