

難治性前立腺癌に対する治療の現状と問題点： 遺 伝 子 治 療

神戸大学医学部医学研究国際交流センター

後 藤 章 暢

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）

白川 利朗, 和田 義孝, 日向 信之

松原 重治, 原 勲, 藤澤 正人

岡田 弘, 荒川 創一, 守殿 貞夫

GENE THERAPY

Akinobu GOTOH

From the International Center for Medical Research, Kobe University School of Medicine

Toshiro SHIRAKAWA, Yoshitaka WADA, Nobuyuki HINATA,

Shigeji MATSUBARA, 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 substantial advances made in recent years in the molecular biology of malignant urological tumors and the associated progressive analysis of these conditions at a molecular level have spurred research aimed at gene-based treatment. In the field of prostate cancer, while there have been many ground-breaking studies particularly in the United States, none has yet led to a revolutionary treatment for recurrent prostate cancer.

Gene-based treatment is being applied seriously in clinical settings, especially in the United States, but so far without significant effect. Many researchers worldwide are devoting energy to the development of effective vectors. By adjusting the promoter, which has the function of directing the vector, we have developed organ-specific vectors for the treatment of prostate cancer. In the present study, which targeted prostate cancer with bone metastasis, we developed a suicide-gene therapy using an adenovirus vector with an organ-specific osteocalcin promoter. Clinical trials of this vector have already been conducted at the University of Virginia in the United States and have so far confirmed the safety of the therapy. In the present paper we present the results of this gene-therapy research from the basic to the clinical phase alongside an outline of related research at our institution.

Gene therapy for cancer is now being targeted not only against the primary tumor but systemic cancers including distant metastases; systemic administration of adenovirus vectors with organ-specific promoters may become one of the most promising systemic anti-tumor therapies of the next-generation.

(Acta Urol. Jpn. 48 : 729-732, 2002)

Key words: Prostate cancer, Hormone refractory, Gene therapy

緒 言

近年、わが国における前立腺癌の発生頻度は増加しており、将来的にはその罹患率や死亡率が欧米なみに高くなるのは必至である¹⁾。ただ、前立腺癌に対する診断と治療の最近の進歩は目覚ましいものがあるが、いまだに解決されていない多くの臨床上的の問題点もある。なかでも、再発前立腺癌の治療がわれわれ泌尿器科医にとって、最も重要な問題となっている。今回のシンポジウムでは難治性前立腺癌に対する治療の現状

と問題点として、将来的な治療法ではあるが、難治性前立腺癌に対する遺伝子治療について、ヴァージニア大学で行われた臓器特異性オステオカルシンプロモーターを用いた自殺遺伝子治療を中心に、遺伝子治療の将来の展望について述べる。

癌の遺伝子治療の現況

遺伝子治療の臨床研究は1989年に米国で開始されて以来、欧米を中心に、2001年9月までに約600のプロトコールについて、3,400人以上の患者に対して行わ

れている。その内訳は遺伝病が8.9%、癌が69%、エイズが11.8%、その他が0.5%になっている²⁾。このように多くの遺伝子治療が行われてきたが、これらの臨床研究は安全性の評価を目的とした第Ⅰ相から第Ⅱ相に相当するプロトコルであり、有効性を科学的に評価できたものは少ない。癌の遺伝子治療では p53 遺伝子治療や自殺遺伝子治療の一部で、癌の縮小が報告されているが、いずれもその有効性を科学的に評価する段階には至っていない。そんな中で、1999年9月に米国で、肝臓の尿素合成酵素の1つであるオルニチンカルバミラーゼ (OTC) 遺伝子に異常がある OTC 欠損症患者の肝動脈内へのアデノウイルスベクターの大量投与の直後に、患者は昏睡状態となり、ARDS、多臓器不全を起こし、4日後に死亡するといった遺伝子治療による初めての死亡事故が起きた³⁾。この原因は正確にはわかっていないが、アデノウイルスベクターに対する非特異的免疫反応に対する過剰反応によって引き起こされたものと考えられている²⁾。他の患者ではこのような反応が起こっていないことから、今回の事故は患者の特異的な反応性によるところが大きいと考えられているが²⁾、アデノウイルスベクター投与が誘因となったことは間違いなく、全世界的に報道され、遺伝子治療に関係する多くの人々に大きな衝撃を与えた。

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⁴⁾。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^{1,5)}。

日本における現状では、1998年に癌に対する遺伝子治療の初めての承認が GM-CSF を用いた腎細胞癌に対する遺伝子治療 (東大医科研) と、p53 を用いた肺癌に対する遺伝子治療 (岡山大学) に対して行われた。2000年には脳腫瘍に対する遺伝子治療が名古屋大学で承認され、生活習慣病に対する遺伝子治療が大阪大学で申請された。2001年には前立腺癌に対する遺伝子治療も承認され、今後多くの実験的治療が計画されていくものと考えられる。

遺伝子治療の臨床応用

今回、われわれが計画している遺伝子治療の方法は、遺伝子を用いて癌細胞を直接殺傷する方法として、自殺遺伝子治療を用いた。自殺遺伝子はヘルペスウイルスのチミジンキナーゼ (HSV-TK) 遺伝子で、

HSV-TK は毒性の弱い前駆体 (プロドラッグ) であるガンシクロビル (GCV) をリン酸化し、毒性の強い GCV-3 リン酸 (GCV-TP) をつくる。GCV-TP は強力な DNA 合成阻害剤で細胞の増殖を止めてしまう。自殺遺伝子治療ではまず HSV-TK 遺伝子を癌細胞に導入しておき、その後、GCV を投与して HSV-TK 遺伝子を持つ癌細胞を殺すことをねらっている。癌の治療法として自殺遺伝子治療が有利な点として、バイスタンダー効果の存在が知られている。これは GCV 投与により、HSV-TK 遺伝子を導入された細胞のみならず、周囲の HSV-TK 遺伝子をもたない癌細胞も死んでしまう現象で、細胞内で産生された GCV-TP が細胞同士を連結している gap junction を経由して、隣接する細胞内にも侵入するためと考えられている²⁾。また、この方法で治療されたマウスでは、癌細胞に特異的な CTL が誘導された例も報告されている⁶⁾。自殺遺伝子治療は直接殺傷効果だけでなく、バイスタンダー効果やワクチン効果も関与しているため、一部の癌細胞に対する遺伝子治療でも効果が期待できると考えられている。

自殺遺伝子治療を行うためには、自殺遺伝子を癌細胞で特異的に発現させる必要がある (Fig. 1)。このために癌細胞で特異的に発現している遺伝子 (α -フェトプロテイン, CEA, PSA 遺伝子) のプロモーター/エンハンサーを利用して自殺遺伝子を発現させることが考えられている。今回われわれは、drug delivery system の概念から、内分泌療法抵抗性前立腺癌の骨転移、リンパ節転移および局所再発例に対し、自殺遺伝子として HSV-TK 遺伝子を、臓器特異性オステオ

• Universal

- LTR - Long Terminal Repeat
- RSV - Rous Sarcoma Virus
- CMV - Cytomegalovirus

• Tissue Specific

- PSA - Prostate Specific Antigen
- OC - Osteocalcin
- AFP - Alpha Fetoprotein
- CEA - Carcinoembryonic Antigen

Fig. 1. Promoters.

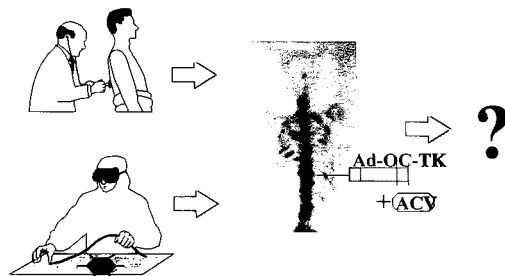


Fig. 2. Ad-OC-TK phase I trial.

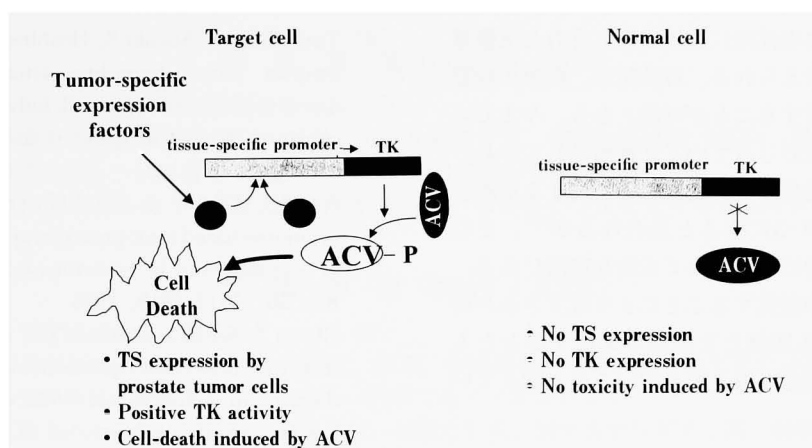


Fig. 3. Why use a tissue-specific promoter ?

カルシン (OC) プロモーターにより制御発現させるアデノウイルスベクター (以下: Ad-OC-TK) を単独で癌転移巣または局所再発巣に局所内投与し, その後バラシクロビルを経口投与するという局所療法を施行した場合の, 安全性の検討および治療効果の観察 (評価可能症例) を目的とする臨床実験を計画した (Fig. 2). われわれは, これまで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 (Fig. 3) は報告してきた⁷⁻¹⁰⁾ しかし, このような臓器・細胞特異性プロモーターは, 発現効率が低く, 十分な殺傷効果を得られないことが多いことも問題点となっており, 特異性を維持したままで発現効率を上昇させる方法が試みられている¹¹⁾ またこれらの結果を踏まえて, 米国では臨床試験がすでに始まり, その安全性に関する臨床試験結果が確認されている¹²⁾

遺伝子治療の将来の展望

遺伝子治療は, 遺伝病の治療法として研究されてきたが, 癌も遺伝子の病気であることが明らかになり, 最近では, 癌は遺伝子治療の重要な対象疾患と考えられるようになってきた. これまでに多くの癌に対する遺伝子治療臨床研究が行われているが, 有効性が確認された例は一部に過ぎず¹³⁾, 臨床的に明らかな有効性は示されていない. 一方では, ペンシルベニアでの遺伝子治療による死亡事故も報告され, 遺伝子治療を進展させていくためには, まだ多くの基礎研究が必要である.

遺伝子治療は歴史的には, 遺伝病を遺伝子レベルで治療する方法として考え出されたもので, 異常遺伝子の修復 (遺伝子修復) が本来の目標であった. ところが最近では, 遺伝子を細胞に導入して細胞に新たな機能を付加したり, タンパク質を分泌させる方法も遺伝子治療と呼ぶようになった (遺伝子付加). このような意味での遺伝子治療では, 遺伝子病だけでなくすべ

ての疾患が対象となりえる. 狭義の遺伝子治療である遺伝子修復と, 遺伝子修復を目的としない遺伝子付加は, 目的や方法も大きく異なり, 安全性や倫理性の基準も違うはずなのであるが, 現在はこれらが混同されて議論されている傾向がある²⁾ 将来的には両者は別々の方向に発展していくものと考えている. 遺伝子修復は遺伝病の究極の治療法としての発展が期待され, 遺伝子を治療しない遺伝子導入は, 多くの疾患に対する重要な治療法の選択肢の1つとして, また, 再生医療分野の基礎技術として広く応用されていくと考えられる.

近年, 医学の中での遺伝子治療の位置づけは次第に変わりつつある. 難治性疾患の夢の治療法という見方から, より現実的な治療技術の1つとして発展しつつある. 遺伝子治療だけですべての癌の治療を行うのは現実的ではない. 癌の集学的治療の中での重要な選択肢の1つとして, 癌の遺伝子治療は発展していくものと考えている.

ただ, 癌の病態は多様であり, 遺伝子治療の対象としては手強い相手である. 現在行われている臨床プロトコルの評価を行うためには, まだ多くの基礎的技術の開発が必要である. 依然として, 十分な導入効率で, 癌細胞を特異的に攻撃できるようなベクターは存在しない. 癌の遺伝子治療を評価できるような動物モデルも作成されていない. また, 癌化のどの段階の, どの分子を標的とするべきなのか絞りきれていないのが現状である. それぞれ個々の癌に対し, これらの問題を着実に解決していく必要がある. 今後の課題として, 遺伝子治療の適応の見直し, 遺伝子治療の技術的な向上, 遺伝子治療を取り巻く環境の整備などがあげられる.

近年の癌に対する遺伝子治療には, 癌の原発巣のみならずむしろ癌の遠隔転移巣などに対する効果, 全身的な抗腫瘍効果といったものが求められてきており, 臓器特異性プロモーターを用いたアデノウイルスベク

ターの全身投与法は次世代における最も有力な抗腫瘍全身療法の一つと考えられる。21世紀は、疾患の病態を分子レベルで解析することが可能となり、今までの治療体系が大きく変わっていくと推測されている。その中で、遺伝子治療は再燃前立腺癌に対する治療法の重要な選択肢の一つになると思われるが¹⁴⁾、まだ理論的には、技術的にもきわめて未熟な段階にある。今後、遺伝子治療が進化することにより確立された再燃前立腺癌に対する医療となるよう期待するとともに、積極的にその開発に取り組んでいこうと考えている。

結 語

難治性前立腺癌に対する治療の現状と問題点のシンポジウムの中で、難治性前立腺癌に対する遺伝子治療の取り組みと、われわれの経験を踏まえ、遺伝子治療の将来の展望について解説した。

最後に、第51回日本泌尿器科学会中部総会会長である大阪医科大学泌尿器科勝岡洋治教授ならびに座長の大阪成人病センター泌尿器科宇佐美道之部長、金沢大学泌尿器科並木幹夫教授には、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

- 1) 後藤章暢, 白川利朗, Chung LWK, ほか: 前立腺癌遺伝子治療の現状と今後の戦略. 癌治療と宿主 **10**: 56-61, 1998
- 2) 島田 隆: 遺伝子治療の将来. 実験医 **19**: 2552-2556, 2001
- 3) News: Science **286**: 2244-2245, 1999
- 4) 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
- 5) 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
- 6) Yamamoto S, Suzuki S, Hoshino A, et al.: Herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated killing of tumor cell induces tumor-specific cytotoxic T cells in mice. Cancer Gene Ther **4**: 91-96, 1997
- 7) 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
- 8) 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 Therapy **4**: 359-365, 1997
- 9) Shirakawa T, Ko SC, Gardner TA, et al.: In vivo suppression of osteosarcoma pulmonary metastasis with intravenous osteocalcin promoter-based toxic gene. Cancer Gene Therapy **5**: 274-280, 1998
- 10) 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
- 11) Sato Y, Tanaka K, Lee G, et al.: Enhanced and specific gene expression via tissue-specific production of cre recombinase using adenovirus vector. Biochem Biophys Res Commun **244**: 455-462, 1998
- 12) Koeneman KS, Kao C, Ko SC, et al.: Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis. World J Urol **18**: 102-110, 2000
- 13) Khuri FR, Nemunaitis J, Ganly I, et al.: A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replications adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. Nat Med **6**: 879-885, 2000
- 14) 後藤章暢, 白川利朗, 和田義孝, ほか: 泌尿器科腫瘍学における分子研究の展望: 遺伝子治療. 泌尿紀要 **47**: 829-832, 2001

(Received on June 21, 2002)
(Accepted on July 3, 2002)