APP-017 サボリン毒素結合モノクローナル抗体を用いた前立腺癌細胞標的療法

防衛医科大学校泌尿器科学講座¹⁾, コーネル大学²⁾

黒田 健司¹⁾, 堀口 明男¹⁾, 住友 誠¹⁾, 伊藤 敬一¹⁾, 朝隈 純一¹⁾, 浅野 貴子¹⁾, 佐藤 全伯¹⁾, 吉井 秀彦¹⁾, 早川 正道¹⁾, Neil Bander²⁾, 浅野 友彦¹⁾

【目的】前立腺膜特異抗原 (PSMA) は前立腺癌治療においてモノクローナル抗体を用いたターゲット療法を施行する際の有効な標的タンパクである。本研究において我々は、コーネル大学 Laboratory of Urological Oncology において精製されたヒト抗 PSMA モノクローナル抗体 (hJ591) とリボソーム不活化タンパクであるサボリン毒素 (以下サボリン) を結合させたターゲットトキシシン (イムノトキシシン) を作成し、PSMA 陽性の前立腺癌細胞に対するその特異的、選択的な抗腫瘍効果の検討を行った。【方法】本研究では PSMA 陽性の前立腺癌細胞株である LNCaP, CWR22Rv1 および PSMA 陰性細胞株 PC-3 を用いた。ピオチン化した hJ591 と、ストレプトアビジンを結合させたサボリンとを氷上においてモル比 1:1 で反応させ、サボリン毒素結合 hJ591 (hJ591-SAZAP) を作成した。hJ591-SAZAP の PSMA に対する特異性、親和性が保持されているかの確認のため、hJ591-SAZAP の PSMA との反応性を酵素結合免疫吸着法 (ELISA) により遊離型 hJ591 の反応性と比較、また同様に PSMA と反応した場合の hJ591-SAZAP の内在化 (internalization) の変化を、免疫蛍光染色法を用いて遊離型 hJ591 を用いた場合と比較した。培養細胞に対する hJ591-SAZAP の抗腫瘍効果の検討には MTT アッセイを、アポトーシスの検出にはフローサイトメトリーを施行した。加えて、ヌードマウスを用いた皮下腫瘍モデルに対する抗腫瘍効果の検討も合わせて行った。【成績】hJ591-SAZAP の PSMA に対する結合能は極めて高く、free hJ591 と比較しても有意な差は認められなかった。内在化については hJ591-SAZAP 投与後 PSMA 陽性細胞株においては hJ591 およびサボリンとも明瞭に認められたが、PSMA 陰性細胞株では判然としなかった。hJ591-SAZAP 投与後 72 時間での IC50 は LNCaP, CWR22Rv1 および PC-3 においてそれぞれ 0.14, 1.99, > 100 nM (hJ591-SAZAP 中の抗体濃度) であり、またフローサイトメトリーによるアポトーシス細胞検出においても後期アポトーシス細胞の割合は hJ591-SAZAP 投与後 72 時間で、LNCaP 60.29%, CWR22Rv1 40.73%, PC-3 4.70% と PSMA 陽性細胞株に対し、特異的かつ選択的に高い抗腫瘍効果を有することが示された。またヌードマウスを用いた動物実験においても hJ591-SAZAP はコントロール群と比して有意な制癌作用を示した。【結論】我々の実験結果から、サボリン毒素結合 hJ591 は、培養細胞および実験動物モデルにおいて PSMA 陽性の前立腺癌細胞に対し強力な抗腫瘍効果を有することが示された。本研究によって、抗 PSMA 抗体とタンパク質性毒素との結合物イムノトキシシンの前立腺癌治療における有用性および将来性が示唆された。

APP-018 前立腺癌における Dihydropyrimidine Dehydrogenase 発現・Thymidylate Synthase 発現の増強とその予後マーカーとしての臨床的重要性

大阪医科大学泌尿器科

水谷 陽一, 枝川 右, 藤末 裕, 内本 晋也, 小山 耕平, 伊夫貴 直和, 稲元 輝生, 右梅 貴信, 能見 勇人, 瀬川 直樹, 東 治人, 勝岡 洋治

【目的】Dihydropyrimidine Dehydrogenase (DPD) は核酸分解において重要な酵素である。また、5-fluorouracil (5-FU) を分解する主な酵素でもある。一方、Thymidylate Synthase (TS) は de novo 核酸合成における律速段階の酵素である。しかし、泌尿器科癌における DPD、TS の重要性はほとんど検討されていないのが現状である。そこで今回、前立腺癌における DPD 発現、TS 発現を測定し、Stage、Gleason score、予後との相関関係を検討した。さらに、DPD 阻害剤である 5-chloro-2, 4-dihydroxypyridine (CDHP) を用いて、5-FU の前立腺癌に対する抗腫瘍効果を増強できるかどうかについても検討した。【対象と方法】前立腺全摘除術時に得た 100 例の前立腺癌組織の DPD 発現と TS 発現を免疫組織染色法にて測定した。100 例のうち、52 例はネオアジュバントホルモン療法を施行していない症例で、残りの 48 例は術前にネオアジュバントホルモン療法を施行していた。【成績】まず、ネオアジュバントホルモン療法を施行していない 52 例について検討した。前立腺癌の DPD 発現陽性率は正常前立腺に比べて高かった。また、DPD 発現陽性率と T-stage、Gleason score との相関関係は認められなかった。DPD 発現陰性の前立腺癌患者よりも DPD 発現陽性の前立腺癌患者の前立腺全摘除術後の 5 年非再発率は低い傾向にあった。ネオアジュバントホルモン療法を施行することにより、前立腺癌組織の DPD 発現は減少した。一方、ネオアジュバントホルモン療法を施行していない症例について、前立腺癌の TS 発現陽性率は正常前立腺に比べて高かった。T3 前立腺癌の TS 発現陽性率は T2 前立腺癌の TS 発現陽性率より高かった。また、Gleason score が 7 以上の前立腺癌の TS 発現陽性率は Gleason score が 6 以下の前立腺癌の TS 発現陽性率より有意に高値であった。TS 発現陰性の前立腺癌患者よりも TS 発現陽性の前立腺癌患者の前立腺全摘除術後の 5 年非再発率は有意に低かった。ネオアジュバントホルモン療法を施行することにより、前立腺癌組織の TS 発現は減少した。次に DPD 発現と TS 発現を組み合わせて前立腺癌患者の予後を検討した。DPD 発現、TS 発現共に陽性の前立腺癌患者は、それ以外の前立腺癌患者より前立腺全摘除術後の 5 年非再発率は有意に低かった。特に、Gleason score が 6 以下の症例や PSA が 10ng/ml 以上の症例において、この傾向が顕著であった。最後に、DPD 阻害剤である CDHP を用いて、5-FU の DU145 前立腺癌細胞株に対する抗腫瘍効果の増強についても検討したところ、in vitro、in vivo 共に 5-FU の抗腫瘍効果が増強された。【結論】DPD 発現、TS 発現が前立腺癌患者の前立腺全摘除術後の予後マーカーになる可能性が示唆された。また、DPD、TS は前立腺癌の分子標的になる可能性も示唆された。