O-229 SUICIDE GENE THERAPY OF PROSTATE CANCER: ADENOVIRAL MEDIATED HERPES SIMPLEX VIRUS THYMIDINE KINASE GENE TRANSDUCTION AND GANCICLOVIR THERAPY

Baylor College of Medicine¹⁾, Okayama University²⁾
Yasutomo Nasu^{1,2)}, Simon J Hall¹⁾, Howard L Adler¹⁾,
Terry L Timme¹⁾, Timothy C Thompson¹⁾

A common strategy for cancer gene therapy involves the transduction of a suicide gene such as the Herpes Simplex Virus thymidine kinase (HSV-tk) gene followed by systemic administration of ganciclovir (GCV). This gene product phosphorylates GCV leading to direct cytotoxicity through termination of DNA synthesis as well as indirect cell killing via the bystander effect.

(Purpose) In this paper, we describe the effectiveness of adenoviral mediated HSV-tk+GCV cytotoxic gene therapy (suicide gene therapy) for prostate cancer using in vivo orthotopic mouse model systems. (Material and methods) Our orthotopic tumor model systems involve inoculation of mouse prostatic cancer cells (RM-1) and human prostatic cancer cells (ND-1) into syngeneic and nude mouse prostates, respectively. Replication-defective recombinant adenovirus (ADV) carrying the HSV-tk gene was injected into the primary prostatic tumor 7 days (RM-1) or 14 days (ND-1) after orthotopic inoculation. Beginning the following day intraperitoneal (IP) injection of GCV (10mg/kg) was performed twice daily for six days. Animals were sacrificed one day after completion of GCV treatment and underwent a careful necropsy. (Result) Therapy with ADV/RSV-tk+GCV resulted in significant growth suppression of local prostatic tumor growth. In the case of RM-1, associated metastatic activity was also suppressed. These data indicate that ADV/HSV-tk+GCV therapy may be effective as a therapeutic agent for prostatic cancer.

O-231 ラット前立腺癌再発及転移モデルにおける光化学療法 (PDT) の応用

国立東京第二¹⁾・Mass.General²⁾・慶應義塾大学³⁾
門間哲雄¹⁾・Tayyaba Hasan²⁾・村井 勝³⁾

目的：前立腺癌患者に対して施行された根治的前立腺摘除術後の局所再発及遠隔転移に対してはホルモン療法あるいは放射線療法が有効と考えられているが、それを再発予防目的のために施行することは副作用などのことから問題がある。そのために、今回我々は、動物モデルを用いて前立腺摘除術に光化学療法 (Photodynamic Therapy; PDT) を併用しその再発予防効果について検討した。

材料と方法：ラット前立腺癌細胞株には、前立腺に直接接種後速やかにリンパ節、肺へ転移するDunning Tumor (R-3327MatLyLu)を使用した。ラット前立腺腹側部に細胞を接種し、7日後にその部分を外科的に切除しその直後に前立腺部からリンパ節の領域にかけて広範にPDTを施行し、21日後に前立腺の重量、病理学的にリンパ節への転移および肉眼的肺転移果の数を検索した。

結果と考察：動物は4群 (コントロール、PDTのみ、前立腺摘除術のみ、両者の併用) に分けた。前立腺の重量はそれぞれ22, 12, 15, 4g、リンパ節転移率はそれぞれ91, 82, 64, 38%、肉眼的肺転移率はそれぞれ80, 82, 64, 16%、であり、前立腺摘除術の直後に施行したPDT併用療法は動物実験モデルにおいて、再発及肺およびリンパ節転移の予防に対して有効であることが示唆された。

O-230 Cytosine deaminase遺伝子を用いた前立腺癌 suicide gene therapyモデル

慶応義塾大学¹⁾・Memorial Sloan-Kettering Cancer Center²⁾
吉村 一良¹⁾・斉藤 史郎¹⁾・村井 勝¹⁾・Warren D. W. Heston²⁾・William R. Fair²⁾

毒性のない5-fluorocytosine(5-FC)を5-fluorouracil(5-FU)に代謝するcytosine deaminase(CD)遺伝子を用いたsuicide gene therapyの有効性をLNCaPヒト前立腺癌細胞をモデルとして検討した。CD/5-FC治療では、同様の原理に基づくHerpes simplex virus-thymidine kinase(HSV-TK)/ganciclovir療法に比べ、代謝物である5-FUが組織中に容易に拡散するという理由から、いわゆるbystander effectが大きいとされている。

【方法】大腸菌のcytosine deaminase遺伝子をcytomegalovirus(CMV) promoterをもつ哺乳類発現ベクターにクローニングした。このpC/CDベクターをLNCaPヒト前立腺癌細胞に陽荷電リポソームを用いてトランスフェクトした。一方tetracycline-repressible promoterをもつプラスミドも作成し、同様にトランスフェクトした。

【結果】cytosine deaminase遺伝子が導入された細胞クロンを分離した。そのうちのひとつLN/CDは5-FCに対して4.61uMという低いID50値を示した。ベクターのみをトランスフェクトしたコントロール細胞LN/pCDNA3は5-FCに抵抗性で、19062uMと高いID50値を示したが、5-FUにはID50値0.965uMと感受性であった。ヌードマウスに接種したLN/CD細胞が形成した腫瘍は、5-FCの腹腔内投与の後縮小することが示された。次にtetracycline-repressible promoterとCD遺伝子をもつpUHD/CDベクターを用いてLNCaPのトランスフェクトを行なった。分離された遺伝子導入細胞の、テトラサイクリンの存在・非存在下における5-FCに対する耐性をテスト中である。

【結論】CD遺伝子発現ベクターはin vitroおよびin vivoにおいてLNCaPヒト前立腺癌細胞モデルにおいて有効であることが示された。この遺伝子治療モデルは、promoter driven gene therapyでの応用に適していると考えられる。

O-232 受精鶏卵法によるヒト前立腺癌転移モデルを用いたスラミンの転移抑制効果の検討

鳴和総合病院¹⁾・金沢大学²⁾・同がん研化療³⁾
小林忠博¹⁾・越田 潔²⁾・遠藤良夫³⁾・今尾哲也²⁾・國見一人²⁾・打林忠雄²⁾・折戸松男¹⁾・佐々木琢磨³⁾・並木幹夫²⁾

【緒言】ホルモン不応性前立腺癌に対する新しい抗癌剤のひとつとして、スラミンが注目されている。我々は、受精鶏卵を用いてヒト前立腺癌培養細胞株PC-3を血行性に投与することによりヒト前立腺癌の肝および骨転移モデルを作製した。次いで、転移のごく初期段階までは組織学的に明らかな転移巣形成後の段階におけるスラミンの抗腫瘍効果について検討した。【方法と結果】孵卵10日目の受精鶏卵漿尿膜上の血管内より、PC-3細胞を1×10⁶個移植後、経時的に肝および大腿骨を摘出した。転移細胞の検出ならびに定量は、各臓器より抽出したDNAを鋳型として、ヒトβ-グロビン遺伝子に対するPCR法により行った。臓器あたりの転移腫瘍細胞数は移植後経時的に増加し、7日目の肝では約9.1×10⁶個、また大腿骨では約9.9×10⁶個であった。肝および骨の転移巣は、抗ヒトサイトケラチン抗体および抗ヒトKi-67抗原抗体を用いた免疫組織化学染色によって確認された。PC-3細胞移植後1日目または3日目にスラミンを50 μg/egg 血管内投与し、7日目に抗腫瘍効果を評価した。肝転移巣に対する腫瘍増殖抑制率は、それぞれ約51%、45%であった。一方、骨転移巣に対する抑制率はそれぞれ約10%、-13%であり、スラミンの転移巣に対する抗腫瘍効果は臓器間で差があることが示唆された。

【結語】PC-3細胞を用いた受精鶏卵法は、ヒト前立腺癌の転移あるいは浸潤の機序解明および抗転移剤開発の基礎的研究に有用な実験モデルになりうるものと思われる。