O- 1 ヒト前立腺癌の転移抑制に関する遺伝子治療

帝京大学 医学部附属市原病院 泌尿器科¹⁾
千葉大学 医学部 泌尿器科²⁾
佐藤 直秀¹⁾ 正井 基之¹⁾ 小俣 那津世¹⁾ 市川 智彦²⁾
伊藤 晴夫²⁾

【目的】ラット前立腺癌の転移抑制遺伝子として同定されたKAI1 (カイワン) 遺伝子が、ヒト前立腺癌に対しても同様に転移を抑制するかどうかを明らかにし、ヒト前立腺癌の転移抑制に関する遺伝子治療の臨床応用の可能性を探る。【方法】アンドロゲン反応性ヒト前立腺癌細胞株LNCaP (KAI1発現なし)にKAI1発現プラスミドをtransfectionし、stableなtransfectant (LN-K)を樹立した。対照プラスミドを導入したLN-MとオリジナルのLNCaP (LN-O)も実験に用いた。KAI1発現はノザンブロットと免疫抗体染色で確認した。【結果】LN-KはLN-O, Mに比べてやや増殖速度が遅いものの、アンドロゲン反応性は保たれていた。*in vitro* invasion assayでは、LN-Kの浸潤能はLN-O, Mに比べて著明に低下していた。LN-O, M, Kをそれぞれ雄SCIDマウスの前立腺背側葉に注入後、マウスの血清前立腺特異抗原が一定値を越えたとき解剖し、転移の有無を組織学的に検索した。LN-O, M注入群では骨盤内リンパ節に75~80%、肺に25~30%の転移が認められたが、LN-K注入群では全く転移が検出されなかった。【結論】KAI1を発現していない前立腺癌細胞にKAI1を導入すると転移を完全に抑制できる可能性が示唆された。今後前立腺癌病巣に直接KAI1発現ベクターを確実に導入する方法を開発していく必要がある。

前立腺癌 転移抑制 遺伝子治療

O- 2 ヒト前立腺癌細胞LNCaPにおけるDouble suicide gene therapyの有効性

防衛医科大学校 泌尿器科学講座¹⁾
防衛医科大学校 寄生虫学講座²⁾

吉村 一良¹⁾ 鈴木 智史¹⁾ 多田 隼 卓史²⁾ 早川 正道¹⁾

【目的】ヒト前立腺癌細胞株LNCaPにおけるHSV-TK/GCV, CD/5-FCシステムによるdouble suicide gene therapyの有効性の検討。【方法】CAGおよびPSAプロモーターの下流にHSV-TK遺伝子を、同様にCMVおよびPSAプロモーターの下流にCD遺伝子を持つプラスミドベクターを作成し、陽荷電リポソームであるリポフェクタミン2000を用いてヒト前立腺癌細胞株LNCaPに*in vitro*での遺伝子導入を試みた。プロドラッグであるGCV, 5-FCを投与し、殺細胞効果を検討した。【結果】*in vitro*でのLNCaPへの遺伝子導入効率率は12%であった。遺伝子導入4日後での細胞の生存率はCAG, PSAプロモーターとHSV-TK/GCVおよびCD/5-FCの組み合わせでそれぞれ71および66%であった。二つのsuicide geneの併用時は69%の生存率であった。PSAプロモーターとHSV-TK/GCVおよびCD/5-FCの併用時の生存率は79%, 88%, および88%であった。【総括】HSV-TK-GCVあるいはCD-5FCシステムによるsuicide gene therapyはLNCaPモデルで有効であった。しかし殺細胞効果は顕著ではなく、ふたつの併用時の優位性は示されなかった。これはLNCaPに対する比較的低い遺伝子導入効率およびUniversal promoterに対するPSAプロモーターの活性の低さに関係すると思われる。より有効な遺伝子導入方法が必要と考えられた。

前立腺癌 遺伝子治療 LNCaP

O- 3 マウス前立腺癌細胞(RM1)に対するALVAC サイトカインベクターの抗腫瘍効果

東邦大学 医学部¹⁾ 佐倉病院 泌尿器科¹⁾ アイオワ大学²⁾

岩澤 俊久¹⁾ 高波 真佐治¹⁾ Ratliff Timothy L.²⁾

【目的】マウス前立腺癌細胞(RM1)とALVAC-IL12, IL12, TNF α を同時接種し、その抗腫瘍効果とメカニズムを調べた。【方法】5×10⁵個のRM1をC57BL/6マウス背部に接種し同時にALVAC-IL12, IL12, TNF α を単独または併用接種した。またRM1接種24, 48, 72時間後にALVAC-IL12, IL12, TNF α を併用接種した。次にCD4, CD8陽性T細胞, NK細胞をそれぞれ枯渇させたマウスに対しRM1接種後ALVAC-IL12, IL12, TNF α を併用投与した。抗腫瘍効果は腫瘍の成長及びマウスの生存率で比較検討した。【結果】ALVAC-IL12, IL12, TNF α は3種の併用で最も抗腫瘍効果を示しRM1と同時接種の場合60%のマウスが生存した。しかしRM1接種24, 48, 72時間後のALVAC-IL12, IL12, TNF α の接種では、腫瘍の成長は遅延したがマウスの生存には影響が出なかった。NK細胞を枯渇させたマウスではALVAC-IL12, IL12, TNF α による抗腫瘍効果は全く認められなかったがCD4, CD8陽性T細胞を枯渇させたマウスでは腫瘍の成長は遅延したが、マウスの生存率には影響しなかった。【総括】ALVAC-IL12, IL12, TNF α の併用でRM1に最も抗腫瘍効果を示した。その作用は主としてNK細胞によるが、CD4, CD8陽性T細胞の必要性も示した。

マウス前立腺癌細胞(RM1) ALVAC 前立腺癌

O- 4 EBVエピゾーマルベクターによる前立腺癌 遺伝子治療の基礎的研究—Fasリガンドとp53遺伝子導入による、抗腫瘍効果の検討—

京都府立医科大学 医学部 泌尿器科¹⁾

京都府立医科大学 医学部 微生物学²⁾

中西 弘之¹⁾ 松田 修²⁾ 佐藤 悦子²⁾ 今西 二郎²⁾ 中尾 昌宏¹⁾
水谷 陽一¹⁾ 三木 恒治¹⁾

【目的】EBVエピゾーマルベクターは、Epstein-Barr Virusの潜伏感染装置であるEBNA1,oriPを有する非ウイルス性プラスミドベクターで、EBNA1,oriPはプラスミドDNAの核内貯留、維持、複製を促進するとされる。我々はこれを前立腺癌細胞株に導入し、通常のプラスミドベクターに比べ遺伝子の発現増強が可能か検討した。さらに治療遺伝子としてFasリガンド,p53を組み込み、抗腫瘍効果を検討した。【対象と方法】EBNA1,oriPを有し、レポーター遺伝子として β -ガラクトシダーゼ (lacZ) 遺伝子を持つpSES- β と、コントロールとしてEBNA1,oriPを持たないpS- β の2種類のベクターを構築した。これをカチオン性ポリマーを使ってPC-3, LNCaP, DU145に遺伝子導入し、ONPG法で経時的にlacZ遺伝子の発現量を定量化した。同時にX-gal染色にて遺伝子発現頻度も確認した。さらにFasリガンド,p53を組み込んだEBVエピゾーマルベクターを、PC-3に対し遺伝子導入し、その効果をcell count, FACS分析などで検討した。【結果】いずれの細胞株においてもpSES- β はpS- β に比べ、lacZ活性は増強し (2~12倍)、発現期間も延長した。またFasリガンドおよびp53を遺伝子導入することにより、PC-3の増殖は抑制され、一部にアポトーシスが確認された。【結論】本法は前立腺癌遺伝子治療への応用が可能と考えられた。

遺伝子治療 前立腺癌 EBVエピゾーマルベクター