

# 内分泌療法再燃前立腺癌に対する HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた自殺遺伝子治療臨床研究

那須 保友

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学

キーワード：前立腺癌，遺伝子治療，アデノウイルスベクター

**Suicide gene therapy with adenoviral vector delivery of HSV-tk gene and the intravenous administration of ganciclovir for patients with local recurrence of prostate cancer after hormonal therapy**

Yasutomo Nasu

Department of Urology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

## 要 旨

「前立腺癌に対する herpes simplex virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」を実施した。対象となる被験者は内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌とした。まず herpes simplex virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後ガンシクロビル (ganciclovir : GCV) を全身投与した。

本研究は2001年3月より第1例目の被験者の治療を開始し、平成17年7月に最終登録例である9例目の被

験者の治療を実施し、6ヶ月以上観察し、臨床試験を終了とした（8名のべ9症例）。

9症例すべてにおいて有意な副作用を認めなかった。また、ウイルスベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は軽度でかつ一過性であった。ウイルスベクター投与後、48時間において採取した組織において mRNA レベルでの HSV-tk 遺伝子の発現が確認された。治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は9例中6例において低下した。

結論として局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後ガンシクロビルを全身投与することの安全性および治療効果が確認された。

## 研究目的

本研究は、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後ガンシクロビルを全身投与

平成20年6月受理

〒700-8558 岡山市鹿田町2-5-1

電話：086-235-7287 FAX：086-231-3986

E-mail：ynasu@md-okayama-u.ac.jp

プロフィール



昭和32年1月29日生

昭和56年3月 岡山大学医学部卒業

昭和61年3月 岡山大学大学院医学研究科修了

昭和61年4月 岡山大学医学部附属病院泌尿器科 医員

昭和61年7月 社会保険広島市民病院泌尿器科 医員

平成1年4月 財団法人積善会附属・十全総合病院泌尿器科 部長

平成3年4月 岡山大学医学部附属病院泌尿器科 講師

平成8年6月 文部省長期在外研究員（米国テキサス州ベイラー医科大学泌尿器科）

平成9年4月 米国テキサス州ベイラー医科大学泌尿器科 客員研究員（平成10年6月まで）

平成16年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 助教授

平成17年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学 助教授

平成19年4月 助教授は准教授となった

現在に至る

した場合の

- 1) 安全性の検討 (最大耐量の推定)
- 2) 治療効果の観察 (評価可能症例)

を目的とする。

内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例で、臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌に対し、まず HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後ガンシクロビルを全身投与する。その際の質的、量的安全性を確認することを本試験の主な目的とする。また、治療効果の判定を行い、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる分子生物学的効果、ベクターの感染、HSV-tk 遺伝子の発現について解析する。

## 実施方法

### 1. 遺伝子導入方法

経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所 (最大2ヵ所) に注入する。ウイルスベクター液は原則1 mlとする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。

HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの注入量は当初、レベル1:  $1 \times 10^9$  PFU, レベル2:  $1 \times 10^{10}$  PFU, レベル3:  $1 \times 10^{11}$  PFU と設定したが、本臨床研究の共同研究者である米国ベイラー医科大学で実施された遺伝子治療臨床研究の結果で HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの至適投与量は  $1 \times 10^{10}$  PFU と判明したので、当初予定していた高容量 (レベル3:  $1 \times 10^{11}$  PFU) の投与は施行せず、低容量 (レベル1) と中容量 (レベル2) を投与した<sup>1)</sup>。

### 2. ガンシクロビル (GCV) の投与

ガンシクロビルの投与は遺伝子導入24時間後から開始する。腎機能正常例での1回投与量は体重1 kgあたり5 mgとし、一日2回14日間 (計28回) とする。薬剤は500mgが1バイアルに包装されており10mlの生理食塩水で溶解し50mg/mlに調整する。体重あたりの投与量より換算された量の溶解液を100mlの点滴用生理食塩水に注入し1時間かけて静脈内投与する。腎機能障害例ではその障害の程度に応じて以下の表に示すごとくに減量もしくは投与間隔を変更した。

## 3. 評価項目

被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は治療前後に行った。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。臨床効果は PSA 値および画像診断より評価した。

PSA の評価については共同研究施設であるベイラー医科大学と同様に以下の指標を用いた。

PSAR (PSA-reduction) : 治療前値と比較した減少率

TR-PSA (time to return to the initial PSA) :

低下した PSA 値が低下した時点から治療前値に戻るまでの期間

PSADT (PSA-doubling time) : PSA 倍加時間

可能な症例についてはアデノウイルスベクター投与後に再度経直腸的前立腺針生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い HSV-tk ウイルスベクターの感染を確認した。治療中及び治療後に認められるすべての毒性・副作用は、Common Toxicity Criterifor AdverseEvents に沿って各治療前後に grade 1-4 で評価した。

## 研究結果

2001年3月第1例目を施行し、8名のべ9症例に対して実施し臨床研究を終了した。HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの低容量 (レベル1:  $1 \times 10^9$  PFU) の投与は3例、中容量 (レベル2:  $1 \times 10^{10}$  PFU) は6例の投与を行った。この内中容量を投与した一例は低容量投与後に PSA 再度上昇したため、2回目の遺伝子治療を行った症例であった (表1)。

### 1. 安全性

カテーテル留置にともなう一過性の血尿は認めるものの、重篤な副作用は認められていない。本治療は安全に施行可能であると考えられる。ウイルスベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は軽度でかつ一過性であった (表2, 図1)。

### 2. 生体内分布

投与直後において尿中にアデノウイルスベクターの排出を認めたが高容量の一例を除き翌日には消失した。血液中への移行は1例のみに投与直後一過性に認められた。

ウイルスベクター投与後、48時間において採取した組織において mRNA レベルでの HSV-tk 遺伝子の発現が確認された (Case 1, 2, 4, 6) (図 2)。

### 3. 臨床効果

治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例 (66.7%) において低下した。PSA が低下した 6 例における PSAR は 6.7~43.9% (平均 24.1%) であり、TR-PSA は 2~13 ヶ月 (中央値 4.5 ヶ月) であった。全症例における治療前 PSADT は 0.3~9.1 ヶ月 (平均 3.4 ヶ月) であったが治療後は 1.2~30.1 ヶ月 (平均 9.1 ヶ月) と有意に延長した ( $p=0.034$ )。さらに 2 回投与を行った症例は 2 回目も PSA の低下を認め複数回の投与の安全性、効果もあわせて確認された (表 3)。

表 1 症例一覧

Patients no.	Age	Stage	Gleason Score	Prior-treatment	Pre-treatment PSA (ng/ml)
<u>Level-1</u>					
1	65	C	5+5	Castration	23.2
2	61	C	5+4	LH-RH+XRT	4.1
3*	78	B	3+3	LH-RH	4.0
<u>Level-2</u>					
4	64	C	4+5	LH-RH	26.0
5	69	C	5+4	LH-RH	21.8
6	70	C	4+5	LH-RH	29.9
7*	80	B	3+3	LH-RH	7.0
8	80	C	5+4	LH-RH	8.8
9	66	C	5+3	LH-RH+XRT	14.6

\* : same patients

表 2 副作用

Patients no.	Increased CRP	Hematuria	headache	Dermoreaction	Others
<u>Level 1</u>					
1		Grade 2			Voiding disturbance, Pollakisuria, Increased LD
2					
3			Grade 1		Nausea
<u>Level 2</u>					
4	Grade 1	Grade 2		Grade 2	Fever, Lumbago, Lukocytopenia
5	Grade 1		Grade 1		Lumbago, Increased T bil.
6	Grade 1				
7		Grade 2			Lumbago, Anemia
8	Grade 1				
9					Decreased Albumin, Anemia

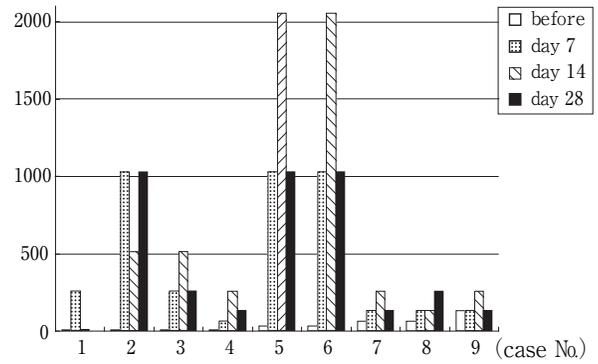


図 1 血中アデノウイルス中和抗体価の推移

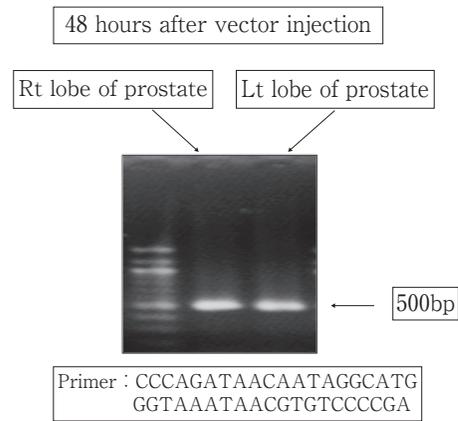


図 2 前立腺内における遺伝子発現 (症例 1 アデノウイルスベクター投与48時間後)

表 3 PSA を指標とした治療効果

Patients no.	Age	Pre-treatment PSA	Nadir PSA	PSAR (%)	TR-PSA (week)	Pre-treatment PSADT (Mo)	Post-treatment PSADT (Mo)
<u>Level 1</u>							
1	65	23.2	(34.9)			1.2	1.7
2	61	4.1	(5.68)			2.0	5.6
3*	78	4.0	3.58	10.1	28	0.3	4.8
<u>Level 2</u>							
4	64	26.0	24.4	6.7	24	7.3	30.1
5	69	21.8	13.3	38.7	8	2.3	2.3
6	70	29.9	20.7	30.6	16	9.1	19.3
7*	80	7.0	3.9	43.9	>52	4.9	12.4
8	80	8.8	7.3	17.6	12	2.1	4.1
9	66	14.6	(26.2)			1.0	1.2

\* : same patients

PSAR (PSA reduction) は 6.7~43.9% (平均 24.1%), TR-PSA (Time to return to the initial PSA) は 2~13 ヶ月 (中央値 4.5 ヶ月)。全症例における治療前 PSADT (PSA doubling time) は 0.3~9.1 ヶ月 (平均 3.4 ヶ月) であったが、治療後は 1.2~30.1 ヶ月 (平均 9.1 ヶ月) と有意に延長した ( $p=0.034$ )。

## 考 察

前立腺癌に対する HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかとなった。

また治療が行われた9例中6例(66.7%)にPSAの低下が認められ、2回投与を行った症例は2回目もPSAの低下が認められ、複数回の投与の安全性、効果が確認された。これらの結果は、ベイラー医科大学において放射線治療後の再燃患者に対して実施された同様の遺伝子治療臨床研究とほぼ同等の結果である<sup>1,2)</sup>。

現在は倫理的観点から有効な治療法が確立されていない内分泌療法再燃患者が対象であるが、今回当該治療法の安全性と有効性が確認されたことにより積極的に他の治療法との併用を検討することが可能となる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、またネオアジュバント効果としての再発ならびに転移を抑制することも期待できる(米国ベイラー医科大学、オランダエラスムス大学で実施中、北里大学申請中)<sup>3)</sup>。放射線療法、内分泌療法との併用も可能と考えられる(米国ベイラー医科大学で実施中)<sup>4)</sup>。すなわち、より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになると期待される。さらに、簡便に行える HSV-tk 遺伝子治療は高齢者や合併症を有する患者に恩恵があると思われ、その汎用性を検証することが可能となる。

## 結 論

前立腺癌に対する HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療の安全性と有効性が確認された。

## 文 献

- 1) Miles BJ, Shalev M, Aguilar-Cordova E, Timme TL, Lee HM, Yang G, Adler HL, Kern K, Pramudji CK, Satoh T, Gdor Y, Ren C, et al. : Prostate-specific antigen response and systemic T cell activation after in situ gene therapy in prostate cancer patients failing radiotherapy. *Hum Gene Ther* (2001) 12, 1955-1967.
- 2) Herman JR, Adler HL, Aguilar-Cordova E, Rojas-Martinez A, Woo S, Timme TL, Wheeler TM, Thompson TC, Scardino PT : In situ gene therapy for adenocarcinoma of the prostate : a phase I clinical trial. *Hum Gene Ther* (1999) 10, 1239-1249.
- 3) van der Linden RR, Haagmans BL, Mongiat-Artus P, van Doornum GJ, Kraaij R, Kadmon D, Aguilar-Cordova E, Osterhaus AD, van der Kwast TH, Bangma CH : Virus specific immune responses after human neoadjuvant adenovirus-mediated suicide gene therapy for prostate cancer. *Eur Urol* (2005) 48, 153-161.
- 4) Teh BS, Aguilar-Cordova E, Kern K, Chou CC, Shalev M, Vlachaki MT, Miles B, Kadmon D, Mai WY, Caillouet J, Davis M, Ayala G, et al. : Phase I/II trial evaluating combined radiotherapy and in situ gene therapy with or without hormonal therapy in the treatment of prostate cancer--a preliminary report. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (2001) 51, 605-613.