

## SOUČASNÉ MOŽNOSTI GENOVÉ TERAPIE KARCINOMU PROSTATY

### CURRENT POSSIBILITIES OF GENE THERAPY OF PROSTATE CANCER

M. ZÁLESKÝ, M. LUKEŠ, R. ZACHOVAL, J. HERÁČEK, J. KUNCOVÁ, M. URBAN

UROLOGICKÁ KLINIKA 3. LF UK A FAKULTNÍ NEMOCNICE KRÁLOVSKÉ VINOHRADY, PRAHA

**Souhrn:** Karcinom prostaty je příčinou smrti u 50 % pacientů s touto diagnózou. Současné možnosti léčby lokálně pokročilého a metastatického karcinomu prostaty jsou nedostatečné. Autoři rozebírají možnosti využití genové terapie karcinomu prostaty. Popsány jsou přístupy k přenosu DNA pomocí virových i nevirálních vektorů, možnosti využití korektivní genové terapie a cytoreduktivní genové terapie přenosem tzv. sebevražedných genů a rovněž možnosti imunoterapie v návaznosti na manipulaci s DNA.

**Klíčová slova:** Karcinom prostaty, genová terapie, imunoterapie

**Summary:** Prostate cancer is cause of death in 50 % of patients with this diagnosis. Contemporary treatment modalities of locally advanced and metastatic prostate cancer are insufficient. Authors discuss possibilities of prostate cancer gene therapy. They describe approaches to DNA transfer by viral and non-viral vectors, possibilities of corrective gene therapy, cytoreductive gene therapy by suicide genes and immunotherapy with DNA manipulation.

**Key words:** Prostate cancer, gene therapy, immunotherapy

Karcinom prostaty je nejčastějším nádorovým onemocněním u mužů ve Spojených státech a zemích západní Evropy. V České republice je druhým nejčastějším nádorovým onemocněním u mužů po karcinomu plic. Incidence karcinomu prostaty, však v posledních desetiletích významně stoupá a dá se předpokládat obdobný trend jako ve výše zmíněných zemích. Lokalizovaný karcinom prostaty je vyléčitelný až v 90 % případů, ať již radikální prostatektomií či radikální radioterapií. Léčba primárně metastatického karcinomu prostaty a relabujícího karcinomu prostaty po selhání loko-regionální terapie však již není léčbou kurativní, a tak téměř 50 % ze všech pacientů na toto onemocnění umírá.

Nedostatečnost léčebných účinků hormonální terapie a chemoterapie u těchto pacientů vede ke zkoumání dalších alternativních přístupů k léčbě tohoto závažného onemocnění. K těmto novým alternativám patří genová terapie, kterou definujeme jako léčbu využívající manipulaci s DNA, ať již v těle pacienta *in vivo* či mimo něj *ex vivo*.

Principy genové terapie můžeme rozdělit do dvou podskupin: korektivní přístup vedoucí k náhradě nefunkčního genu zodpovědného za maligní fenotyp nádorové buňky a cytoreduktivní přístup vedoucí k selektivní smrti nádorových buněk.

V současnosti již vedle základního výzkumu probíhá řada klinických studií, které jsou ve stadiu I a II. K úspěšné genové terapii je nutné určit vhodný gen, cestu aplikace, ať již celkovou či lokální, a zajistit, aby se gen exprimoval jen v maligních buňkách. Stejně důležitý je rovněž výběr vhodného nosiče, který zajistí bezpečný přenos DNA do cílových buněk.

#### Přenos DNA

K přenosu DNA do cílových buněk se využívají tzv. vektory. Ideální vektor je schopen zajistit přenos DNA do cílových buněk, aniž ovlivňuje ostatní buňky organismu, je netoxický pro pacienta i životní prostředí, není imunogenní, ani mutagení a lze ho snadno vyprodukovat ve vysokých koncentracích za nízkou cenu. V současné době neexistuje vektor, který by splňoval všechna výše uvedená kritéria. (1)

#### Nevirové vektory

Nejjednodušší metodou nevirálního přenosu genetické informace je podání DNA ve formě plazmidu. Po systémové aplikaci je však DNA degradována během 5 minut, a tak je zasažena jen malá část cílových buněk. Lepších výsledků je dosahováno s tzv. lipozomovými komplexy, v nichž je DNA plazmid obalen lipidy. Kationtové lipidové pouzdro lipozomového komplexu chrání DNA před degradací, dobře splyne s plazmatickou membránou buněk, a tak zlepšuje úspěšnost přenosu genetické informace do buněk. Výhodou tohoto postupu je také nízká imunogenita vektoru a bezpečnost přenosu, protože DNA plazmid nemá patogenní vlastnosti virů. Důsledkem aplikace lipozomových komplexů je delší biologický poločas vektoru a vyšší transfekční poměr (množství DNA obsažené ve vektorech, která se skutečně dostane do cílových buněk). Většina komplexů je přesto metabolizována v játrech, a proto se ani tato metoda příliš nehodí pro systémovou aplikaci. (2)

Jinou možností přenosu nevirálních vektorů je přenos tzv. antisense oligonukleotidů (ASO). ASO jsou chemicky modifikované části jednovláknové DNA, komplementární k některým oblastem mRNA vytvořené podle DNA cílového genu. Tvorbou komplexů s mRNA ASO inhibují translaci genu, který chceme tímto způsobem ovlivnit. Úspěšnost užití ASO závisí na přesnosti hybridizace, protože pouze při přesné shodě ASO s cílovou sekvencí mRNA dochází k zablokování translace příslušné mRNA. Použití ASO bylo popsáno zejména v experimentech a klinických studiích s inhibicí translace některých onkogenů (Bcl-2, c-myc atd.) (3-5), ale i růstových faktorů a jejich receptorů (TGF-alfa, EGFR) (6) a také např. anti-apoptického genu clusterinu (7). Nevýhodou ASO podobně jako dalších nevirálních vektorů je jejich krátký biologický poločas, způsobený jejich štěpením endonukleázami.

#### Virové vektory

Největší úspěšnosti v přenosu genetického materiálu je v současnosti dosahováno virovými vektory (8). Pro přenos gene-

tické informace do cílových buněk se využívá několik druhů virů.

**Retroviry** jsou RNA-viry vybavené enzymem reverzní transkriptázou, který přepisuje virovou genetickou informaci z RNA do DNA. Přepsaná virová DNA je poté integrována do genomu hostitelské buňky, kde již trvale zůstává. Genetická informace přenesená retroviry, tak na rozdíl od přenosu DNA-viry, zůstává trvale přítomná v cílových buňkách. Integrace genetické informace do DNA hostitelské buňky má z hlediska genové terapie své výhody (možnost trvalé exprese genů přenesených retrovirem), ale i nevýhody (potenciální riziko virem indukované onkogeneze). Během integrace genetické informace vektoru totiž nelze vyloučit vznik mutací v genomu hostitelské buňky, i když podle všech doposud provedených experimentů je bezpečnost jejich užití vysoká.

Z teoretického hlediska se jedná o velmi slibnou metodu, ale náročnost na přípravu vektoru *in vitro* a špatný transfekční poměr vysvětluje, proč zůstává ve svých výsledcích za očekáváním. Nevýhodou retrovirů je také jejich velikost, která neumožňuje přenos genetické informace větší než 8 kb. (2, 5)

Další skupinou virových vektorů, které se testují i pro léčbu karcinomu prostaty, jsou **adenoviry** (zejména typ 2 a 5). Výhodou těchto DNA-virů je jejich vysoký transfekční poměr, jejich schopnost produkovat vysoké titry v tkáňové kultuře (snadná příprava), přímá lýza tumorové buňky způsobená replikací viru, nízké procento integrace virové DNA do genomu buněk a jejich velikost umožňující přenést informaci až 35 kb.

Relativní nevýhodou je jejich krátkodobý účinek (2-6 týdnů) a jejich vysoká imunogenita. (2) Po celý život se běžně setkáváme s respiračními adenoviry, a tak imunitní systémem dokážeme rozpoznat jejich povrchové proteiny. Vytvořením imunitní paměti je usnadněno zneškodnění adenovirových vektorů před jejich proniknutím do cílových buněk.

Snížení imunogenicity a tím zvýšení transfekčního poměru je možné dosáhnout vytvořením tzv. „gutless“ adenovirů. Odstranění většiny DNA původního adenoviru způsobuje, že tento virus exprimuje na svém povrchu jen minimum původních proteinů a tím snižuje možnost svého rozeznání imunitním systémem pacienta. Tak je možné zajistit expresi přenesených genů po dobu 4-6 měsíců. (9, 10)

Vstup adenovirů do buněk je zprostředkován pomocí coxsackie-adenovirového receptoru (CAR). Úspěšnost přenosu DNA prostřednictvím adenovirového vektoru je přímo úměrná množství CAR na cílových maligních buňkách. Zvýšením exprese CAR dochází k zvýšení citlivosti k adenovirové infekci i k usnadnění přenosu adenovirovým vektorem. Okegawa a kol. (11) prokázali sníženou expresi CAR v buňkách linie karcinomu prostaty PC3. Stanovení exprese CAR by mohlo být užitečným markerem při výběru pacientů, kteří by mohli profitovat z genové terapie adenovirovým vektorem.

Virus může být rovněž upraven tak, že na jeho povrchu je exprimován nevirový protein (např. některý z integrinů), který usnadňuje jeho vstup do cílových buněk. Tímto způsobem by mohl být vstup přes CAR nahrazen vstupem viru jinou cestou. Zatím je tento přístup zkoumán u retrovirů (12).

Dalším zkoumaným virem je **adeno-asociovaný virus**. Tento virus nemá vlastní replikační vybavení a bez společného napadení buňky adenovirem je neinfekční. Jeho zvláštní vlastností je, že se inkorporuje do lidského genomu vždy na stejné specifické místo (krátké raménko 19. chromozomu). Tuto vlastnost se však dosud nepodařilo zachovat u adeno-asociovaných virů upravených pro genovou terapii.

Viry rodiny **pox virů** (zejména virus vakcinie) mají výhodu ve své velikosti, která dovoluje přenos téměř jakékoliv potřebné genetické informace. Jejich vlastní genom má velikost 186 kb. Tyto DNA-viry obsahují vlastní replikační i transkripční enzymy, a k jejich funkci není nutné působení v jádře hostitelských buněk. Tím se snižuje riziko inzerční mutagenese.

Mezi nevýhody patří vysoká imunogenita pox virů a jejich dočasná exprese. (2)

## **Korektivní genová terapie**

V literatuře je popsáno mnoho genetických změn zodpovědných za různé fáze vzniku a progresu karcinomu prostaty. Vedle onkogenů je velmi důležitá ztráta tumor-supresorových genů. Jejich náhradou lze teoreticky dosáhnout přeměny nádorové buňky zpět v buňku normální nebo alespoň snížení maligního potenciálu nádorové buňky.

Mnoho badatelů se zabývá možností zvýšení apoptózy přenosem divoké formy genu p53 (wt p53). Protein p53 je zodpovědný za regulaci apoptózy, a proto je důležitým faktorem chránícím buněčný genom. Mutace či ztráta obou alel p53 se vyskytuje u 25-60 % hormonálně independentních karcinomů prostaty (1, 2, 13).

Ko a kol. (14) prokázali, že buňky linie hormonálně-independentního karcinomu prostaty, které byly *in vitro* infikované adenovirem nesoucím wt p53, po přenosu na myš nevytvorily tumor *in vivo*. Na základě tohoto nálezu bylo zahájeno mnoho preklinických i klinických studií. Eastham a kol. (15) prokázali na zvířecím modelu, že po místní aplikaci adenoviru nesoucího wt p53 došlo jak k potlačení růstu primárního tumoru, tak i ke snížení četnosti progresu do metastatického stadia. Přenos wt p53 adenovirovým vektorem (wt p53 Ad) je nyní ve fázi I a II klinických studií. Sweeney a Pisters (16) zkoumají výsledky intraprostatické aplikace wt p53 Ad jako neoadjuvantní léčby před radikální prostatektomií a radioterapií u lokálně pokročilého karcinomu a lokalizovaného karcinomu se špatnými prognostickými znaky.

V dalších klinických studiích je zkoumán efekt přenosu wt p53 adenovirovým vektorem v kombinaci s chemoterapeutiky paclitaxelem, cisplatinou, doxorubicinem, 5-fluorouracilem, methotrexatem a etoposidem. Na zvířecím modelu wt p53 Ad potencoval účinek chemoterapeutik (17, 18). Lze tedy předpokládat, že fáze III klinických zkoušek bude rovněž obsahovat větev kombinující wt p53 Ad s chemoterapií. Na zvířecím modelu je také ověřována možnost zvýšení účinku radioterapie prostřednictvím aplikace p53 Ad (19).

Jak *in vitro* tak *in vivo* je testován společný přenos genu p53 a p21 adenovirovým vektorem (20).

V dalších studiích je ověřován efekt přenosu i jiných genů než p53. Například Allay a kol. (21) publikovali slibné výsledky *in vitro* a *in vivo* ve zvířecím experimentu po aplikaci adenoviru nesoucí divokou formu pro-apoptického genu p16. Dalším genem, jehož přenos adenovirovým vektorem přinesl slibné výsledky je gen PML (progressivní multifokální encefalopatie). Injekce tohoto genu do karcinomu prostaty u myši snížila růst tumoru o 60% (22). Výborných výsledků ve stadiu I klinické studie bylo také dosaženo přenosem genu BRCA 1 retrovirovým vektorem (23). Podobně slibné výsledky byly získány *in vitro* i *in vivo* přenosem genu c-myc retrovirovým vektorem (5). V literatuře je popisován přenos i dalších genů např. bcl-2 či genu kódujícího růstový faktor TGF-beta (2).

## **Cytoreduktivní genová terapie**

Karcinom prostaty stejně jako ostatní nádory vykazuje rozmanitě vícečetné změny DNA. Tento fakt napovídá, že oprava jednoho genu nemusí k reparaci DNA stačit. Zdá se tedy, že mnohem efektivnějším přístupem než přeměna nádorových buněk v buňky nenádorové může být spíše cytoredukce prostřednictvím genové terapie.

Takovou cestou je využití tzv. **sebevražedných genů (suicide genes)** s následným podáním prekurzoru toxické látky (pro-drug) (8). Sebevražedné geny, které jsou přeneseny do genomu nádorových buněk, mohou produkovat protein s enzymatickou aktivitou transformující netoxický prekurzor v aktivní toxickou látku a to selektivně jen v buňkách tumoru. Tato toxická látka způsobí buněčnou smrt nejen v buňkách s exprimovanými sebevražednými geny, ale i v okolních buňkách. Tento

efekt nazývaný jako „bystander efekt“ je zodpovědný za zničení téměř celého tumoru při přenosu genu na pouhých 10 % buněk nádoru (24). Pro tento fenomén existuje několik vysvětlení: a) toxické metabolity částečně přecházejí přes nexy (gap junctions) buněčné membrány, b) poškozené buňky obsahující sebevražedné geny uvolňují toxické látky do okolního mikroprostředí, c) lokální uvolnění cytokinů v důsledku poškození napadených buněk vede ke zvýšení anti-tumorózní odpovědi imunitního systému, d) poškození endoteliálních buněk sebevražednými geny způsobuje ischemii tumoru (1).

V současné době jsou využívány dva druhy terapie přenosem sebevražedných genů s následným podáním prekursoru toxické látky, které jsou v různých stádiích laboratorního a klinického výzkumu (24).

Prvním druhem je přenos genu thymidinkinázy z viru herpes simplex (HSV-tk) s následným podáním gancycloviru (GCV). Thymidinkináza je fosforylační enzym, který fosforylací GCV přemění tento netoxický prekursor v toxickou látku. Ta již nedokáže přejít přes celulární membránu a je inkorporována do nově tvořené DNA. To vede k inhibici DNA polymerázy, k zastavení syntézy DNA a buněčné smrti.

Druhým typem terapie sebevražednými geny je přenos genu bakteriální cytozindeaminázy (CD) *Escherichia coli* s následným podáním 5-fluorocytosinu. CD dokáže přeměnit prekursor 5-fluorocytosin na toxický 5-fluorouracyl (1). V současnosti je však více využíván systém HSV-tk/GCV.

Prioritou cytoreduktivního přístupu je selektivita působení na nádorové buňky. K tomuto účelu se využívá tzv. **tkáňově specifických promotorů**. Promotor je krátká nukleotidová sekvence, která řídí transkripci genu tím, že zprostředkuje jeho vazbu na RNA polymerázu. Ta následně syntetizuje mRNA, podle které je na ribozómech vytvořen výsledný protein. Dosud jsou často používány nespecifické promotory, např. promotor cytomegaloviru či viru RSV (virus Rousova sarkomu), které mohou vést k expresi genu nejen v cílové tkáni tumoru, ale také v ostatních tkání. Tím však dochází k větším systémovým komplikacím. Vestavěním tkáňově specifického promotoru (např. PSA promotoru) do viru spolu s genem HSV-thymidinkinázy vede k expresi tohoto enzymu jen v buňkách produkujících PSA, protože jen tyto buňky mají nezbytnou výbavu a regulační nastavení umožňující expresi genu s PSA promotorem (25). Promotory genů prostatického specifického antigenu, prostatického specifického membránového antigenu (PSMA), hK-2 a promotory dalších specifických sekvencí pro prostatické buňky mohou být využity ke spuštění exprese sebevražedného genu selektivně v nádorové buňce.

Osteokalcinový promotor spolu s HSV-tk v adenovirovém vektoru využili Koenman a kol. (26) k léčbě androgen-independenčního metastatického karcinomu prostaty. Osteokalcin je nekolagenní kostní protein, který je rovněž produkován některými solidními tumory včetně karcinomu prostaty. Využití promotoru tohoto genu ve spojení se sebevražedným genem vede k selektivnímu poškození buněk tumoru prostaty.

Vzhledem k nízké úspěšnosti přenosu genových vektorů při systémovém podání v důsledku imunitní reakce příjemce a afinitě adenovirů k respiračnímu systému je v současnosti preferována přímá intratumorózní aplikace.

Přenos sebevražedných genů s následným podáním prekursoru toxické látky je využíván v několika klinických studiích v těchto indikacích: 1) lokální recurence po radioterapii, 2) neoadjuvantní aplikace před radikální prostatektomií u lokalizovaného karcinomu prostaty se špatnými prognostickými znaky a 3) kombinace genové terapie sebevražednými geny s radioterapií u lokalizovaného, lokálně pokročilého a metastatického karcinomu prostaty (24, 26, 27).

### Cytoreduktivní imunoterapie

Jednou z nejnádějnějších metod vyžívajících možností manipulace s DNA je vyvolání zvýšené odpovědi imunitního systému na antigeny nádorových buněk.

Vznik a růst tumorů je možný pouze v případě, že tumory dokážou uniknout kontrole imunitního systému. Základní myšlenka imunoterapie nádorů vychází ze skutečnosti, že tumory obsahují řadu různých specifických antigenů, které se mohou stát úspěšným terčem útoku imunitního systému.

V současnosti jsou v nádorové imunoterapii karcinomu prostaty využívány dva základní přístupy, tzv. ex-vivo přístup (buňky tumoru prostaty či imunitního systému jsou geneticky upravené mimo tělo pacienta a ve formě připravených vakcín aplikovány zpět pacientovi) a in-vivo přístup (genetické změny vznikají v těle pacienta či experimentálního zvířete po aplikaci vektoru nesoucího gen pro cytokin, který zvyšuje imunitní odpověď).

### Ex-vivo přístup

Geny pro tvorbu cytokinů je možné přenést do tzv. tumor infiltrujících lymfocytů (TIL), získaných z tkáně tumoru prostaty po operaci či biopsii. TIL jsou izolovány z tkáně tumoru a po přenesení genu pro cytokin do TIL, který zvýší jejich přirozenou anti-tumorózní aktivitu, jsou aplikovány zpět pacientovi. Jinou možností je přenos genů pro cytokiny do nádorových buněk ex-vivo (přenos probíhá mimo tělo pacienta) s následným navrácením těchto buněk zpět do těla. K zajištění bezpečnosti jsou upravené nádorové buňky před jejich navrácením inaktivovány ozářením. Změněné nádorové buňky s produkcí cytokinu indukují imunitní reakci proti vlastním antigenům karcinomu prostaty. Nejčastěji je využíváno přenosu genu IL-2 (interleukin-2), INF-gama (interferon gama), TNF-alfa (tumor necrosis factor alfa), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) (2).

Autologní vakcínu připravenou z buněk nádoru prostaty získaných po chirurgickém výkonu použili ve své studii Simons a kol. (28). Do získaných buněk přenesli pomocí retrovirového vektoru gen pro GM-CSF. Po iradiaci buněk byla tato buněčná vakcína aplikována zpět pacientovi. Nežádoucí účinky byly omezeny jen na místo aplikace vakcíny (pruritus, edém a zrudnutí). Krátká doba sledování a malý počet pacientů neumožnily jednoznačnou interpretaci výsledků studie.

Naitoh a kol. (29) ex-vivo přenesli gen IL-2 do nádorových buněk získaných z prostatického karcinomu u potkanů a z buněčné linie karcinomu prostaty R3327-MatLyLu. Nádorové buňky produkující cytokiny aplikovali experimentálním zvířatům na místo vzdálené od primárního tumoru. Po jejich aplikaci došlo k vymizení primárního subkutánního tumoru a navození imunitní paměti na buňky karcinomu prostaty.

Další cestou je využití tzv. autologní celulární vakcíny antigen-prezentujících buněk (APC). Tyto vakcíny jsou připravovány stimulací mononukleárů získaných z periferní krve, které se následně diferencují v antigen-prezentující buňky. Antigen-prezentující buňky derivované z mononukleárů (MD-APC) jsou kultivovány za přítomnosti nádorových antigenů a stávají se z nich zralé APC, které po zpětné aplikaci do organismu předkládají tyto antigeny imunitnímu systému. (30) APC tedy předkládají nádorový antigen T-lymfocytům, které jej identifikují navázaný na hlavní histokompatibilní komplex (MHC). Intracelulární kaskádou biochemických reakcí dojde k aktivaci T-buněk a k jejich proliferaci. Aktivované T-lymfocyty jsou schopny lyzovat buňky, které obsahují antigen a MHC, v tomto případě tedy buňky tumoru.

**Dendritické buňky** jsou považovány za nejvíce potentní antigen-prezentující buňky imunitního systému, které dokážou stimulovat i tzv. naivní T-buňky. Tyto buňky tedy výtečně splňují požadavky na prezentaci nádorového antigenu imunitnímu systému organismu. Studie s vakcínou obsahující dendritické buňky nesoucí peptidy derivované z prostatického specifického membránového antigenu je ve fázi I a II klinického výzkumu. Po aplikaci autologní vakcíny dendritických buněk, které měly na svém povrchu peptidy derivované z PSMA (prostatický specifický membránový antigen), byla zaznamenána pozitivní odpověď u 58% pacientů (31, 32).

## In-vivo přístup

Cytokiny (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, INF, TNF) hrají důležitou roli v aktivaci a proliferaci T-lymfocytů a ovlivňují funkci APC. Antitumorózní aktivita IL-2 a interferonu byla prokázána např. u adenokarcinomu ledviny (33, 34).

Aktivita IL-2 u karcinomu prostaty byla prokázána v experimentu s metastatickým karcinomem prostaty přeneseným do femuru myši. Antitumorózní účinek byl pozorován jak po celkové tak lokální aplikaci (35, 36).

IL-2 je jedním z nejsilnějších anti-tumorózních cytokinů, který ovlivňuje imunitní reakci jednak zvýšením exprese MHC antigenů a jednak ovlivněním CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. IL-2 je bohužel velmi rychle degradován a jeho systémová aplikace je spojena se značnou toxicitou.

V klinických studiích je v současnosti zkoumán efekt aplikace vektoru nesoucího gen pro IL-2, který má zajistit protražované hladiny IL-2 v cílové tkáni a který má při lokální aplikaci minimální celkovou toxicitu. Belldegrun a kol. (37) publikovali výsledky fáze I klinické studie, zkoumající účinek intraprostatické aplikace lipozomových komplexů (nevirové

vektory) obsahujících gen IL-2. Autoři indikovali léčbu jako neoadjuvantní terapii před radikální prostatektomií a jako terapii pokročilého tumoru prostaty. Léčba byla pacienty velmi dobře tolerována a po aplikaci byla prokázána systémová imunitní odpověď organismu a dočasný pokles hladiny PSA. Ve skupině pacientů s progresí karcinomu po předchozí léčbě (radioterapie, hormonální terapie) došlo po aplikaci lipozomových komplexů s genem IL-2 k poklesu hladiny PSA u 60% pacientů a tento pokles trval v souhrnu 10 týdnů.

## Závěr

Genovou terapii doposud nelze považovat za standardní terapii karcinomu prostaty a její užití je omezeno jen na zvířecí experimenty a klinické studie. Z výsledků základního výzkumu je však zřejmý obrovský potenciál skrytý v možnostech ovlivnění genetické informace nádorových buněk genovou manipulací. Stále však chybí klinické studie ve fázi III, které by naznačovaly možnosti širšího využití tohoto přístupu. Genová terapie by však mohla být již relativně brzy využívána u neléčitelného metastatického stadia karcinomu prostaty.

## Literatura:

1. Shalev, M., Thompson, T. C., Kadmon, D., et al.: Gene therapy for prostate cancer. *Urology*, 57, 2001, s. 8-16.
2. Palapattu, G. S., Naitoh, J., Belldegrun, A. S.: Gene therapy for prostate cancer. *New perspectives on an old problem. Urol Clin North Am*, 26, 1999, s. 353-63.
3. Chi, K. N., Gleave, M. E., Klasa, R., et al.: A phase I dose-finding study of combined treatment with an antisense Bcl-2 oligonucleotide (Genasense) and mitoxantrone in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 7, 2001, s. 3920-7.
4. Tolcher, A. W.: Preliminary phase I results of G3139 (bcl-2 antisense oligonucleotide) therapy in combination with docetaxel in hormone-refractory prostate cancer. *Semin Oncol*, 28, 2001, s. 67-70.
5. Steiner, M. S., Anthony, C. T., Lu, Y., Holt, J. T.: Antisense c-myc retroviral vector suppresses established human prostate cancer. *Hum Gene Ther*, 9, 1998, s. 747-55.
6. Rubenstein, M., Glick, R., Lichter, T., et al.: Treatment of the T98G glioblastoma cell line with antisense oligonucleotides directed toward mRNA encoding transforming growth factor- $\alpha$  and the epidermal growth factor receptor. *Med Oncol*, 18, 2001, s. 121-30.
7. Gleave, M. E., Miyake, H., Zellweger, T., et al.: Use of antisense oligonucleotides targeting the antiapoptotic gene, clusterin/testosterone-repressed prostate message 2, to enhance androgen sensitivity and chemosensitivity in prostate cancer. *Urology*, 58, 2001, s. 39-49.
8. Hegarty, N. J., Fitzpatrick, J. M., Richie, J. P., et al.: Future prospects in prostate cancer. *Prostate*, 40, 1999, s. 261-8.
9. Hitt, M. A., Addison, C. L., Graham, F. L.: Human adenovirus vectors for gene transfer into mammalian cells. *Adv Pharmacol*, 40, 1997, s. 137-205.
10. Koeneman, K. S., Hsieh, J. T.: The prospect of gene therapy for prostate cancer: update on theory and status. *Curr Opin Urol*, 11, 2001, s. 489-94.
11. Okegawa, T., Li, Y., Pong, R. C., et al.: The dual impact of coxsackie and adenovirus receptor expression on human prostate cancer gene therapy. *Cancer Res*, 60, 2000, s. 5031-6.
12. Gordon, E. M., Chen, Z. H., Liu, L.: Systemic administration of matrix-targeted retroviral vector is efficacious for cancer gene therapy in mice. *Hum Gene Ther*, 12, 2001, s. 193-204.
13. Bookstein, R., MacGrogan, D., Hilsenbeck, S. G., et al.: p53 is mutated in a subset of advanced-stage prostate cancers. *Cancer Res*, 53, 1993, s. 3369-73.
14. Ko, S. C., Gotoh, A., Thalmann, G. N., et al.: Molecular therapy with recombinant p53 adenovirus in an androgen-independent, metastatic human prostate cancer model. *Hum Gene Ther*, 7, 1996, s. 1683-91.
15. Eastham, J. A., Grafton, W., Martin, C. M., Williams, B. J.: Suppression of primary tumor growth and the progression to metastasis with p53 adenovirus in human prostate cancer. *J Urol*, 164, 2000, s. 814-9.
16. Sweeney, P., Pisters, L. L.: Ad5CMVp53 gene therapy for locally advanced prostate cancer - where do we stand? *World J Urol*, 18, 2000, s. 121-4.
17. Nielsen, L. L., Lipari, P., Dell, J., et al.: Adenovirus-mediated p53 gene therapy and paclitaxel have synergistic efficacy in models of human head and neck, ovarian, prostate, and breast cancer. *Clin Cancer Res*, 4, 1998, s. 835-46.
18. Gurmani, M., Lipari, P., Dell, J., et al.: Adenovirus-mediated p53 gene therapy has greater efficacy when combined with chemotherapy against human head and neck, ovarian, prostate, and breast cancer. *Cancer Chemother Pharmacol*, 44, 1999, s. 143-51.
19. Cowen, D., Salem, N., Ashoori, F., et al.: Prostate cancer radiosensitization in vivo with adenovirus-mediated p53 gene therapy. *Clin Cancer Res*, 6, 2000, s. 4402-8.
20. Eastham, J. A., Hall, S. J., Sehgal, I., et al.: In vivo gene therapy with p53 or p21 adenovirus for prostate cancer. *Cancer Res*, 55, 1995, s. 5151.
21. Allay, J. A., Steiner, M. S., Zhang, Y., et al.: Adenovirus p16 gene therapy for prostate cancer. *World J Urol*, 18, 2000, s. 111-20.
22. He, D., Mu, Z. M., Le, X., et al.: Adenovirus-mediated expression of PML suppresses growth and tumorigenicity of prostate cancer cells. *Cancer Res*, 57, 1997, s. 1868.
23. Steiner, M. S., Lerener, J., Greenberg, M., et al.: Clinical phase I gene therapy trial using BRCA 1 retrovirus is safe (abstract). *J Urol*, 159, 1998, s. 132.
24. Shalev, M., Miles, B. J., Thompson, T. C., et al.: Suicide gene therapy for prostate cancer using a replication-deficient adenovirus containing the herpesvirus thymidine kinase gene. *World J Urol*, 18, 2000, s. 125-9.
25. Lu, Y., Steiner, M. S.: Transcriptionally regulated adenoviruses for prostate-specific gene therapy. *World J Urol*, 18, 2000, s. 93-101.
26. Koeneman, K. S., Kao, C., Ko, S. C., et al.: Osteocalcin-directed gene therapy for prostate-cancer bone metastasis. *World J Urol*, 18, 2000, s. 102-10.
27. Teh, B. S., Aguilar-Cordova, E., Kernen, K., 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*, 51, 2001, s. 605-13.
28. Simons, J. W., Mikhak, B., Chang, J. F., et al.: Induction of immunity to prostate cancer antigens: results of a clinical trial of vaccination with irradiated autologous prostate tumor cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor using ex vivo gene transfer. *Cancer Res*, 59, 1999, s. 5160-8.
29. Naitoh, J., Tso, C. L., Kaboo, R.: Intraprostatic interleukin-2 (IL-2) gene therapy: preliminary results of phase I clinical trial for the treatment of locally advanced prostate cancer (abstract). *J Urol*, 159, 1998, s. 254.
30. Bartholeyns, J., Romet-Lemonne, J. L., Chokri, M., et al.: Cellular vaccines. *Res Immunol*, 149, 1998, s. 647-9.
31. Tjoa, B. A., Lodge, P. A., Salgaller, M. L., et al.: Dendritic cell-based immunotherapy for prostate cancer. *CA Cancer J Clin*, 49, 1999, s. 117-28, 65.
32. Tjoa, B. A., Simmons, S. J., Elgamal, A., et al.: Follow-up evaluation of a phase II prostate cancer vaccine trial. *Prostate*, 40, 1999, s. 125-9.
33. Rosenberg, S. A., Lotze, M. T., Muul, L. M.: A progress report on the treatment of 157 patient with advanced cancer using lymphokine activated killer cells and interleukin-2 or high dose interleukin-2 alone. *New England J Med*, 316, 1987, s. 889-897.
34. Atzpodien, J., Korfer, A., Evers, P.: Low dose subcutaneous recombinant interleukin-2 in advanced human malignancy: A phase II outpatient study. *Molecular Biot.*, 2, 1990, s. 18-26.
35. Kocheril, S. V., Grignon, D. J., Wang, C. Y., et al.: Responsiveness of human prostate carcinoma bone tumors to interleukin-2 therapy in a mouse xenograft tumor model. *Cancer Detect Prev*, 23, 1999, s. 408-16.
36. Hautmann, S. H., Huland, E., Huland, H.: Local intratumor immunotherapy of prostate cancer with interleukin-2 reduces tumor growth. *Anticancer Res*, 19, 1999, s. 2661-3.
37. Belldegrun, A., Tso, C. L., Zisman, A., et al.: Interleukin 2 gene therapy for prostate cancer: phase I clinical trial and basic biology. *Hum Gene Ther*, 12, 2001, s. 883-92.