



*Norman J. Maitland, PhD*

Professor of Molecular Biology, Director of the YCR Cancer Research Unit, Department of Biology, University of York, PO Box 373, York YO1 5YW, U.K. (njm9@york.ac.uk).

Conference date and venue: 21st May 2003, "C Hall", Faculty of Medicine, University of Parma, Parma. Introduced by Prof. Amos Casti, Department of Biochemistry, University of Parma, Parma, Italy

## Exploitation of Prostate Gene Expression to Develop Targeted Therapies

Prostate cancer is a common disease for which no long term therapy is currently effective. Alternative therapies based on scientific evidence are therefore an urgent requirement as the number of cases rises in the US to almost 1.3 million per annum. One such potential treatment is specific gene therapy against the tumour. Gene therapy has recently suffered from a lack of confidence due to undesirable side effects but the key to gene therapy just as with other conventional chemotherapy is targeting of the tumour cells. My laboratory has developed a triple targeting strategy for viral vectors in gene therapy, via which combines an attachment targeting, the first interaction of the virus with a tumour cell, transcriptional targeting, where gene control sequences from genes over expressed either in prostate cancer or in prostate epithelial cells relative to other cells are modified to drive therapeutic genes. The third arm of targeting is the development of tumour specific genes whose over expression or inhibition will specifically affect tumour cells leaving the surrounding tissue relatively unharmed. All three possibilities are possible in prostate, making use of the increasing basic science knowledge accumulated in the last ten years. It is also important in designing gene therapy vectors to take into account the response of the patient to such

## Utilizzazione degli studi di espressione genica nella prostata per lo sviluppo di terapie mirate al cancro prostatico

*Il cancro prostatico è una malattia diffusa per la quale non è attualmente a disposizione una terapia efficace di lunga durata. Poiché in numero di casi aumenta negli USA fino ad 1,3 milioni per anno, sono urgentemente richieste terapie alternative basate sull'evidenza scientifica. Uno di tali potenziali trattamenti consiste nella terapia genica specifica contro il tumore. Tale tipo di terapia ha recentemente sofferto di una diminuzione di fiducia a causa di effetti collaterali indesiderati, ma la chiave della terapia genica, così come di altre chemioterapie convenzionali, consiste nella realizzazione di un approccio specificamente mirato alla cellula tumorale. Nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato una strategia mirata tripla per l'uso di vettori virali da utilizzarsi per la terapia genica, che combina l'adesione mirata, ovvero l'interazione primaria tra virus e cellula tumorale, con la regolazione trascrizionale mirata, grazie alla quale sequenze di controllo genico ottenute da geni sovraespressi sia nel cancro prostatico che nelle cellule epiteliali prostatiche, rispetto ad altri tipi cellulari, sono stati modificati per controllare l'espressione di geni terapeutici. A questi si aggiunge il terzo componente del progetto, ovvero lo sviluppo di geni specifici tumorali la cui espressione o inibizione modificherà in modo specifico l'attività delle cellule tumorali lasciando inalterate le circostanti cellule del tessuto. Tutte e tre queste possibilità sono attuabili nella prostata, sfruttando le conoscenze di base che si sono accumulate negli ulti-*

vectors. The use of non human viruses as vectors rather than common human viruses such as adenoviruses for which there is a pre existing immune response, may offer completely new possibilities of susceptibility. For example the use of insect viruses such as Baculoviruses, with a large capacity for exogenous DNA introduction (including that of a complete human adenovirus) and no immune response are also a promising agent which is currently under development. In combination with the triple targeting technology which takes advantage of our ability to grow and manipulate these viruses it is particularly promising. However, a major limitation in the development of optimal therapies is the lack of good pre-clinical testing models, before such therapies are brought into clinical trial. Most models of prostate cancer use isolated epithelial cells, where an imperfect pattern of gene expression has been repeatedly recorded. More precise and more representative models, which take account of the acknowledged involvement of stromal cells and extra cellular matrix in the control of gene expression have been developed in York, resulting in a restoration of many of these normally tissue culture-silenced functions. The analysis of these three dimensional models has indicated that in some cases the target cells for prostate cancer therapy may indeed be wrong. The existence of tumour stem cells which are able to "hide" from conventional therapies by a lack of expression of androgen receptor for example, and a positional affect within the cancer, offer a novel explanation for the resistance of prostate cancers to these therapies and efforts to identify the characteristics of these cells and to target them should cut off the ultimate supply of cancer cells and lead to a complete eradication of the cancers.

Lastly, Baculoviruses offer tremendous advantages in safety terms, since they have a greatly reduced requirement for animal serum in the culture of the viruses

*mi dieci anni. Nel progettare i vettori per la terapia genica è molto importante tenere in considerazione la risposta del paziente a tali vettori. L'uso di virus non umani come vettori piuttosto che adenovirus, per i quali esiste una pre-risposta immune, può offrire possibilità di suscettibilità individuale completamente nuove. Ad esempio, l'uso di virus di insetto come il Baculovirus, che possiede una grande capienza per l'inserimento di DNA esogeno (quanto quella di un adenovirus umano completo) e non provoca risposta immunitaria, rappresenta una classe di agenti promettenti che sono attualmente in corso di sviluppo. Questi vettori sono particolarmente promettenti se usati in combinazione con la tecnologia dell'approccio mirato triplo, che trae vantaggio dalla nostra capacità di crescere e manipolare questi virus. Comunque, una delle maggiori limitazioni nello sviluppo di terapie ottimali è la carenza di buoni modelli di verifica pre-clinica, da utilizzarsi prima che tali terapie vengano portate al trial clinico. La maggior parte dei modelli di studio del cancro prostatico utilizzano cellule epiteliali isolate, nelle quali è stato riportato ripetutamente che il profilo di espressione genica non rappresenta correttamente lo stato pato-fisiologico. In York abbiamo sviluppato dei modelli più precisi e più rappresentativi, che considerano il coinvolgimento competente delle cellule stromali e della matrice extracellulare nel controllo dell'espressione genica. Grazie a tali modelli abbiamo ricostruito molte delle normali funzioni che vengono solitamente inibite nelle condizioni di coltura convenzionali. L'analisi di questi modelli tridimensionali ha dimostrato che in alcuni casi le cellule di solito bersagliate nella terapia del cancro prostatico potrebbero essere quelle sbagliate. L'esistenza di cellule staminali tumorali che sono capaci di "nascondersi" alle normali terapie, perdendo ad esempio l'espressione del recettore degli androgeni, e l'effetto posizionale all'interno del tessuto canceroso, ci offrono una nuova interpretazione e spiegazione della resistenza dei tumori prostatici alle terapie convenzionali. L'identificazione delle caratteristiche di queste cellule e la capacità di colpirle in modo selettivo dovrebbe consentire di bloccare il continuo rifornimento di cellule tumorali, portando ad una completa eradicazione della malattia.*

*Infine, i Baculovirus offrono enormi vantaggi in termini di sicurezza, poiché possono essere coltivati con quantità molto ridotte di siero animale.*