

pRB の制御を外れた E2F 活性を利用したがん細胞特異的傷害法の開発

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻 大谷研究室 倉吉 健太

外科的治療適応外の進行がんに対する抗がん療法として、放射線と抗がん剤が主に利用されている。これらの抗がん療法は増殖中の細胞を優先的に傷害する為、がん細胞だけでなく正常な増殖細胞も傷害し、副作用が生じる問題がある。そこで、がん細胞をより特異的に傷害する方法の開発が試みられている。

その 1 例として、がん細胞で強い活性をもつ E2F1 プロモーターを利用したアプローチがある。これは、ほぼ全てのがん細胞において、転写因子 E2F を抑制している pRB を中心とする RB 経路に異常が存在し、E2F 活性が亢進していることに依る。しかし、正常な増殖細胞においても、増殖刺激により pRB は不活性化されているため、E2F1 プロモーターは E2F により活性化されている。従って、がん細胞だけでなく正常細胞も傷害される可能性がある。よりがん細胞特異的にアプローチするには、正常な増殖細胞では活性化されず、がん細胞で特異的に活性化されるプロモーターを用いる必要があると考えられる。

先行研究より、がん細胞には正常細胞には存在しない、pRB の制御を外れた E2F 活性が存在する可能性が示唆されている。また、pRB の制御を外れた E2F によって特異的に活性化される ARF プロモーターが見出されている。そこで本研究では、pRB の制御を外れた E2F 特異的に活性化される ARF プロモーターを用いて、がん細胞をより特異的に傷害する方法の開発を試みた。

まず、ARF プロモーターががん細胞特異的アプローチに有用であるかを調べるために、ARF プロモーターが E2F1 プロモーターよりがん細胞特異的に活性を示すか否かをレポーターアッセイで調べた。その結果、ARF プロモーターは E2F1 プロモーターより多くのがん細胞株において、がん細胞特異性が高く、がん細胞特異的傷害法に有用なプロモーターである可能性が示唆された。そこで、それぞれのプロモーターで細胞傷害性遺伝子 *HSV-TK* を発現制御した組換えアデノウイルスを作製し、細胞傷害作用を SubG1 期細胞の割合を指標に、正常細胞とがん細胞株で比較した。その結果、ARF プロモーターを用いた組換えアデノウイルスは、E2F1 プロモーターを用いたものよりも正常細胞を傷害しにくく、よりがん細胞特異的に傷害できることが分かった。次に、pRB の制御を外れた E2F 反応性 エレメントと基本転写活性の低い ARF コアプロモーターを併用することでがん細胞特異性を増強できるか否かを調べた。その結果、がん抑制遺伝子 *TAp73* の pRB の制御を外れた E2F 反応性 エレメントである ERE73(1+2)もしくは ERE73(3+4)を ARF コアプロモーターに接続することで、がん細胞でのみプロモーター活性を高めることができ、ARF プロモーターおよび E2F1 プロモーターより高いがん細胞特異性を示すことが分かった。

以上のことから、pRB の制御を外れた E2F 活性はがん細胞特異的アプローチに有用であることが強く示唆された。