

|            |  |
|------------|--|
| 氏 名        | 倉 吉 健 太                                      |
| 学位の専攻分野の名称 | 博士（理 学）                                      |
| 学位記番号      | 甲理第171号（文部科学省への報告番号甲第625号）                   |
| 学位授与の要件    | 学位規則第4条第1項該当                                 |
| 学位授与年月日    | 2017年3月16日                                   |
| 学位論文題目     | <b>がん細胞特異的傷害法におけるがん細胞特異的なE2F活性の有用性の検討</b>    |
| 論文審査委員     | （主査） 教授 平 井 洋 平<br>（副査） 教授 大 谷 清<br>教授 今 岡 進 |

現在約2人に1人ががんに罹患し、約3人に1人ががんで死亡しており、がんは、ヒトの死亡原因の中で1位を占めている。がん治療の基本は、早期発見、早期治療である。しかし、発見された時点で既に転移があり、外科的治療が困難なことが多い。このような場合には、抗がん剤療法または放射線療法が適応される。これらの抗がん療法によるがんの根治治療が困難である最大の原因は、これらの抗がん療法には副作用があり、副作用が出ないように治療を控えなければならない制約から、がん細胞を完全に死滅させられないことにある。したがって、副作用が生じないように正常な細胞は傷害せず、がん細胞のみ特異的に傷害することが大きな課題となっている。そのために、がん細胞を特異的に傷害する新たな方法の開発が試みられている。その1つに、細胞傷害性遺伝子をがん細胞特異的に発現させる自殺遺伝子療法がある。この方法においては、自殺遺伝子の発現を制御するプロモーターの活性が、副作用を避けるために正常細胞で低く、治療効果を上げるためにがん細胞で高いことが望まれる。本研究では、がんが生じる基本メカニズムに基づき、がん細胞に特異的に存在する E2F の転写活性がこの目的に有用か否かを検討した。また、この活性を高めることにより、より改善できるか否かも検討している。

## 論文内容の要旨

本論文は大きく4つの部分から構成されている。第1節では、がん細胞に特異的に存在する E2F 活性を利用するために、その活性に特異的に反応するがん抑制遺伝子 *ARF* のプロモーターに着目した。種々の癌細胞株と正常細胞を用いてがん細胞特異性を検討し、*ARF* プロモーターが既存の E2F1プロモーターよりもがん細胞特異的に遺伝子発現を行うことを示している。さらに、それぞれのプロモーターで細胞傷害性遺伝子として *HSV-TK* の発現を制御した組換えアデノウイルスを作成し、*ARF* プロモーターを用いたものの方が既存の E2F1プロモーターを用いたものよりも、よりがん細胞特異的に傷害できることを示している。第2節では、同じくがん細胞に特異的に存在する E2F 活性に特異的に反応する癌抑制遺伝子 *TAp73* に着目し、その E2F 反応性エレメントを利用することにより、がん細胞特異性の向上を試みた。*ARF* プロモーターの上流の制御配列を除去したコアプロモーターに *TAp73* プロモーター由来の E2F 反応性エレメントを複数接続することによりがん細胞特異性を増強でき、既存の E2F1プロモーターや *ARF* プロモーターだけでなく、*hTERT* プロモーターよりもがん細胞特異性を高められることを示している。第3節では、がん細胞特異的に存在する E2F 活性に及ぼす PI3K 経路の影響を検討している。PI3K 経路は、増殖刺激によって活性化され、細胞生存シグナルを伝える経路である。増殖刺激によって PI3K 経路を活性化しても、PI3K 経路のエフェ

クターである Akt/PKB の活性化型を導入して直接 PI3K 経路を活性化しても、がん細胞特異的に存在する E2F 活性は抑制されないことを示している。したがって、がん細胞特異的な E2F 活性を用いたアプローチは、増殖刺激存在下でも有効である可能性を示している。第4節では、サイクリン依存性キナーゼ活性が、がん細胞特異的な E2F 活性に及ぼす影響を検討した。がん細胞においては、亢進したサイクリン依存性キナーゼ活性が、がん細胞特異的な E2F 活性を抑制していることを見出した。さらに、サイクリン依存性キナーゼ抑制因子を用いてサイクリン依存性キナーゼ活性を抑制することにより、がん細胞特異的な E2F 活性を増強でき、よりがん細胞特異的に傷害できることを示している。以上の結果より、がん細胞特異的に存在する E2F 活性は、がん細胞特異的な傷害法に有用であることが強く示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文は、新しいがん治療法の基盤として、がん細胞特異的に存在する E2F 活性のがん細胞特異的な傷害法への有用性を検討したものである。その結果、がん細胞特異的な E2F 活性に特異的に反応する ARF プロモーターを用いることにより、既存の E2F1 プロモーターよりもがん細胞特異的に傷害できることを示した。さらに、同じくがん細胞特異的な E2F 活性に特異的に反応する TAp73 プロモーター由来の E2F 反応性エレメントを併用することにより、がん細胞特異性をより増強できることを示した。また、増殖刺激によって活性化され、細胞に生存シグナルを伝える PI3K 経路は、がん細胞特異的な E2F 活性に影響を与えないことから、このアプローチは増殖刺激の存在下でも有効である可能性を示した。さらに、がん細胞においては亢進したサイクリン依存性キナーゼ活性ががん細胞特異的な E2F 活性を抑制しており、サイクリン依存性キナーゼ抑制因子を用いてサイクリン依存性キナーゼ活性を抑制することにより、がん細胞特異的な E2F 活性を増強でき、よりがん細胞特異的に傷害できることを示した。したがって、がん細胞特異的な E2F 活性は、がん細胞特異的な傷害法に有用であることが強く示唆された。がん細胞特異的な E2F 活性は、発がんの原理に基づくため真にがん細胞特異的であると予想され、がん細胞特異的な傷害法にその有用性が示されたことは高く評価できる。

審査委員会は、本論文の内容を中心に審査会と公聴会を行い、著者が研究内容と研究手法を深く理解し、研究の背景についても十分な知識を有することを確認した。さらに、著者が独立した研究者として研究を進展させていく十分な知識と能力、外国語の学力をもつと判断した。上記の研究成果は、査読付き国際ジャーナルに筆頭著者として3編の英語論文として (Biochem. Biophys. Res. Commun. 3報)、共著者として1編の英語論文 (Genes Cells) と1編の総説 (International Biology Review) として発表している。また、米国がん学会や日本がん学会、日本分子生物学会において、筆頭著者として7回発表している。以上により、審査委員会は本論文の著者が博士 (理学) の学位を授与されるに足る十分な資格を有するものと判定した。