

氏名	さい き まさ あき 齊 木 雅 章
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2268 号
学位授与の日付	平 成 12 年 7 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学位論文題目	Adenovirus-mediated gene transfer of a truncated form of fibroblast growth factor receptor inhibits growth of glioma cells both <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> (アデノウイルスを用いた線維芽細胞増殖因子の欠失型受容体遺伝子の導入による神経膠腫細胞の増殖抑制効果に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 今 村 正 之 教 授 柴 崎 浩 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) と、その高親和性受容体 (FGFR) はヒト悪性神経膠腫細胞において細胞膜のみならず核にも強く発現しており、腫瘍組織における細胞増殖と血管新生に関与していると報告されている。また、チロシンキナーゼ活性を持つ細胞内ドメインを欠失させた FGFR を細胞に発現させると、野生型 FGFR との間に不活性型のヘテロダイマーを形成し、FGFR を失活させることが知られている。この欠失型 FGFR による FGFR 不活性化の、悪性神経膠腫に対する *in vitro* 及び *in vivo* における腫瘍増殖抑制効果を検討するため、遺伝子導入効率の優れたアデノウイルスベクターを構築した。

COS-TPC 法に従って、欠失型ニワトリ FGFR1 型を強力な CAG プロモーターで発現させるアデノウイルスベクター (AxCAΔFR) の構築を行い、AxCAΔFR 感染細胞に目的とした欠失型 FGFR が発現することが、FGFR1 の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体 (Ab6) を用いたウエスタンブロット法で確認された。さらに、FGF-2 を添加することにより促される NIH 3T3 細胞の寒天培地上のコロニー形成能が AxCAΔFR を感染させることにより抑制された。

FGF-2 と FGFR を強発現していると報告されている、ヒト悪性神経膠腫細胞株 U-251MG と T98G にこの AxCAΔFR を感染させ、Ab6 を用いた免疫蛍光染色を行ったところ、欠失型 FGFR タンパクが細胞質だけではなく核にも発現していた。

AxCAΔFR 感染 U-251MG 及び T98G 細胞は、非感染細胞及び lacZ 遺伝子発現アデノウイルスベクター (AxCALacZ) 感染細胞のコントロールに比べて、無血清培地上の細胞増殖能および寒天培地上のコロニー形成能が有意に低下していた。

さらに、ヌードマウス皮下に移植した U-251MG 細胞の増大が、AxCAΔFR の腫瘍内注入により AxCALacZ 注入に比べて有意に抑制された。

以上より、我々が構築した欠失型 FGFR 発現アデノウイルスベクターにより細胞膜だけではなく核の FGFR が不活性化され、悪性神経膠腫の増殖を抑制されることが、*in vitro* 及び *in vivo* において確認された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) と、その高親和性受容体 (FGFR) はヒト悪性神経膠腫細胞において細胞膜のみならず核にも強く発現しており、腫瘍組織における細胞増殖と血管新生に関与していると報告されている。また、チロシンキナーゼ活性を持つ細胞内ドメインを欠失させた FGFR を細胞に発現させると、野生型 FGFR との間に不活性型のヘテロダイマーを形成し、FGFR を失活させることが知られている。この欠失型 FGFR による FGFR 不活性化の、悪性神経膠腫に対する *in vitro* 及び *in vivo* における腫瘍増殖抑制効果を検討するため、遺伝子導入効率の優れたアデノウイルスベクターを構築した。

COS-TPC 法に従って、欠失型ニワトリ FGFR1 型を強力な CAG プロモーターで発現させるアデノウイルスベクター (AxCA Δ FR) の構築を行い、AxCA Δ FR 感染細胞に目的とした欠失型 FGFR が発現することが、FGFR1 型の細胞外ドメインに対するモノクローナル抗体 (Ab6) を用いたウェスタンブロット法で確認された。さらに、FGF-2 を添加することにより促される NIH3T3 細胞の寒天培地上のコロニー形成能が AxCA Δ FR を感染させることにより抑制された。

FGF-2 と FGFR を強発現していると報告されている、ヒト悪性神経膠腫細胞株 U-251MG と T98G にこの AxCA Δ FR を感染させ、Ab6 を用いた免疫蛍光染色を行ったところ、欠失型 FGFR タンパクが細胞質だけではなく核にも発現していた。

AxCA Δ FR 感染 U-251MG 及び T98G 細胞は、非感染細胞及び lacZ 遺伝子発現アデノウイルスベクター (AxCALacZ) 感染細胞のコントロールに比べて、無血清培地上の細胞増殖能および寒天培地上のコロニー形成能が有意に低下していた。

さらに、ヌードマウス皮下に移植した U-251MG 細胞の増大が、AxCA Δ FR の腫瘍内注入により AxCALacZ 注入に比べて有意に抑制された。

以上より、我々が構築した欠失型 FGFR 発現アデノウイルスベクターにより細胞膜だけではなく核の FGFR が不活性化され、悪性神経膠腫の増殖を抑制されることが、*in vitro* 及び *in vivo* において確認された。

以上の研究は悪性神経膠腫の細胞増殖機序解明に貢献し、脳腫瘍の治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成12年3月31日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。