

氏 名	清 川 岳 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2117 号
学位授与の日付	平成 11 年 3 月 23 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 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Prostate-specific amplification of Expanded Polyglutamine Expression: A Novel Approach for Cancer Gene Therapy (前立腺特異的伸長ポリグルタミン発現増幅法：癌遺伝子治療の新しいアプローチ) (主査)
論 文 調 査 委 員	教 授 野 田 亮 教 授 鍋 島 陽 一 教 授 小 川 修

論 文 内 容 の 要 旨

癌の違法子治療においては、治療遺伝子をいかにして癌選択的に効率よく発現させるかが一つの課題である。それを達成するアプローチとして、癌組織特異的に発現している蛋白を同定し、その遺伝子の発現制御領域、すなわち組織特異的プロモーターを用いて治療遺伝子を発現させる方法が理論的には成立する。しかし現実には、組織特異性と高発現量を兼ね備えた理想的なプロモーターの報告は少ない。Prostate-specific antigen (PSA) は前立腺癌の進行とともにその血中濃度の上昇する前立腺癌の血清腫瘍マーカーであり、極めて厳密に前立腺組織特異的な発現様式を示すことが知られている。当研究ではPSA遺伝子発現制御領域の前立腺癌遺伝子治療における可能性を追求することを目的とした。まず過去の報告をもとにPCR法にて増幅したPSA遺伝子断片をプローブにし、ヒトゲノムライブラリーよりPSA遺伝子全長を単離した。それが制御する転写活性をルシフェラーゼにて解析することにより、5'領域約5300bpが、非前立腺組織細胞では発現せず、前立腺癌細胞のみで発現するという前立腺特異性に関して必要かつ十分であるという結果を得た。しかしながらその発現量は、十分な発現量ゆえに用いられるCMV promoterの1%以下で非常に低値であった。遺伝子治療目的では、この発現量は不十分であったため、前立腺特異性という長所を維持しつつ、低発現量という短所を克服する目的で、組織特異的発現増幅法を考案した。すなわち、PSA promoter制御下に強力な人工転写活性化因子であるGAL4-VP16遺伝子を発現させ、前立腺でのみ発現したGAL4-VP16蛋白がGAL4-responsive elementを含んだminimal promoter制御下に発現する治療遺伝子産物を数百倍量に増幅させるというものである。この方法により、非前立腺組織細胞では発現を増幅させることなく前立腺癌細胞LNCaPにおいて、CMVpromoterに匹敵する発現が可能となった。さらに、癌遺伝子治療におけるこの組織特異的発現増幅法の長所を生かすため、治療遺伝子としてのExpanded-polyglutamine gene (ex-polyQ gene) の可能性を追求した。ポリグルタミンはハンチントン舞踏病に代表される遺伝性神経変性疾患の原因遺伝子産物に共通に見られる蛋白領域であり、病的遺伝子はそのグルタミンをコードするCAG配列数が正常遺伝子と比較して異常に増加している。さらにその病的に伸長したグルタミン部分を含んだ蛋白が特定の神経細胞内に蓄積し、発現量依存的に神経細胞にアポトーシスを引き起こすことがこれら遺伝性神経変性疾患の病態である可能性が示唆されている。まずこの発現量依存的アポトーシスに着目し、伸長したグルタミン蛋白をコードする遺伝子、すなわちex-polyQ geneをCMVpromoterにて組織非特異的に各種癌細胞に発現させた。その結果、神経由来の細胞に限らず全ての細胞で、やはり発現量依存的にアポトーシスが起こることが確認できた。次に上述の前立腺組織特異的発現増幅法にて同様に各種細胞にex-polyQ geneを導入したが、この発現法では、非前立腺細胞には影響を与えず前立腺癌細胞LNCaPのみにex-polyQが発現し、アポトーシスを誘導することが可能であった。これらの結果は、前立腺癌を標的にした遺伝子治療を他の正常臓器に影響を与えることなく効率よく行い得ることを示している。加えて、組織特異的遺伝子発現増幅法とex-polyQ geneの組み合わせは、組織特異的プロモーターを変えることで前立腺

癌以外の癌の遺伝子治療に対しても十分応用できる可能性を秘めている。

論文審査の結果の要旨

癌遺伝子治療においては、治療遺伝子を癌選択的に効率よく発現させる必要がある。当研究では、まずProstate-specific antigen (PSA) 遺伝子の発現制御領域の単離および解析を行い、5'領域が非常に活性の弱い前立腺特異的プロモーターであるとの結果を得た。そのため、この前立腺特異性という長所を維持しつつ、低発現量という短所を克服するため、転写活性化因子GAL4-VP16遺伝子を介在させた組織特異的発現増幅法を考案し、前立腺癌細胞のみににおいて、100倍以上の発現量を得ることが可能となった。さらに、この方法の長所を生かすべく、治療遺伝子としてExpanded-polyglutaminegene（遺伝性神経変性疾患群の原因遺伝子に共通に見られる領域で、神経細胞を含め各種細胞にアポトーシスを引き起こす）の可能性を探った。この方法で発現させたExpanded-polyglutamineは、非前立腺細胞には影響を与えず前立腺癌細胞のみにアポトーシスを誘導することが可能であった。

以上の研究結果は、前立腺癌を標的にした遺伝子治療を他の正常臓器に影響を与えることなく効率よく行い得ること示唆しているのはもちろんのこと、組織特異的プロモーターを変えることで前立腺癌以外の癌の遺伝子治療に対しても十分応用できる可能性を秘めており、今後の癌遺伝子治療の発展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11年2月10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。