

(45)

氏名(生年月日) ^コ古 ^ガ賀 ^{ショウ}祥 ^ジ嗣
 本 籍
 学位の種類 博士(医学)
 学位授与の番号 乙第2187号
 学位授与の日付 平成14年12月20日
 学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)
 学位論文題目 **A novel telomerase-specific gene therapy: gene transfer of caspase-8 utilizing the human telomerase catalytic subunit gene promoter**
 (テロメラーゼ特異的遺伝子治療—テロメラーゼ触媒ユニットのプロモーターを利用したカスパーズ8の遺伝子導入)
 論文審査委員 (主査)教授 東間 紘
 (副査)教授 小田 秀明, 伊藤 達雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

癌の遺伝子治療において、癌にアポトーシスを起こさせて治療しようとする方法は現在その主流を占めているが、アポトーシスを正常細胞には起こさせず、癌特異的に起こさせる方法はまだ確立されていない。一方、テロメラーゼは正常細胞(幹細胞や生殖細胞を除く)では発現していないが、ほとんどの癌細胞では発現が認められている。今回、我々は、テロメラーゼの構成成分の一つである telomerase reverse transcriptase (hTERT) のプロモーターにアポトーシスに関係する遺伝子のひとつであるカスパーズ8を付加することにより癌特異的にアポトーシスを誘導できたのでここに報告する。

〔対象および方法〕

10種類の癌細胞と2種類の正常細胞を使用した。hTERT promoter driven luciferase (hTERT/luciferase) および hTERT promoter driven caspase-8 expression plasmid (hTERT/caspase-8) を作製し、上記12種類の細胞で、luciferase assay を施行した。SV40 promoter driven caspase-8 plasmid (SV40/caspase-8) と hTERT/caspase-8 とで、上記12種類の細胞における in vitro でのアポトーシスの有無を検討した。最後にヌードマウス皮下腫瘍モデルを用いて hTERT/caspase-8 の直接投与における効果を検討した。

〔結果〕

全ての癌細胞において、正常細胞と比べて有意差を持って、hTERT の transcriptional activity は高値を示していた。上記の結果より hTERT promoter を用いることで、テロメラーゼ陽性細胞に特異的に gene を誘導できることが示唆された hTERT/caspase-8 は、癌細胞のみに apoptosis を起こさせ、正常細胞は、何の変化も来させなかった。一方 SV40/caspase-8 は癌細胞および正常細胞双方に apoptosis を起こさせた。最後にヌードマウス皮下腫瘍モデルを用いて hTERT/caspase-8 (50 μ g) を5日間、腫瘍に直接投与した。対象群では、腫瘍サイズが測定時(投与開始6日目)に142%になっていたが、hTERT/caspase-8 投与群では、腫瘍サイズは58%に減少していた。

〔考察〕

hTERT promoter を利用した caspase-8 の遺伝子導入は、正常体細胞には apoptosis を誘導することなしに癌細胞には apoptosis を導入し得た。これは癌特異的遺伝子導入という観点より考慮し画期的な方法であり、ほぼ全ての癌に適用可能である点で臨床的意義はかなりあるといえる。しかし、テロメラーゼ陽性の細胞は、幹細胞、生殖細胞、活性化リンパ球などの正常細胞にも発現しており、全身投与をした場合にはこれらの組織に重大な副作用を及ぼす可能性も否定できない。よって、今後は in vivo での副作用の検討を行う必

要があると思われた。

〔結語〕

hTERT promoter を利用した caspase-8 の遺伝子導入は、癌細胞特異的に apoptosis を誘導し得た。

論文審査の要旨

癌の遺伝子治療において、癌にアポトーシスを起こさせて治療しようとする方法は、現在その主流を占めているが、アポトーシスを正常細胞には起こさせず、癌特異的に誘導させる方法はまだ確立されていない。

一方、テロメラーゼは正常細胞（幹細胞や生殖細胞を除く）では発見していないが、ほとんどの癌細胞には発現が認められている。著者らは、本研究においてテロメラーゼの構成成分の一つである telomerase reverse transcriptase (hTERT) のプロモーターに Caspase-8 遺伝子を導入することによって、癌細胞特異的にアポトーシスを誘導できることを発見した。

画期的な確定であり、今後の癌特異的遺伝子治療への臨床応用への道を拓くもので、その学術的かつ臨床的意義は大きい。

主論文公表誌

A novel telomerase-specific gene therapy: gene transfer of caspase-8 utilizing the human telomerase catalytic subunit gene promoter (テロメラーゼ特異的遺伝子治療—テロメラーゼ触媒ユニットのプロモーターを利用したカスパーズ 8 の遺伝子導入)

Human Gene Therapy Vol 11 No10 1397-1406 頁 (2000年7月1日発行) Koga S, Hirohata S, Kondo Y, Komata T, Takakura M, Inoue M, Kyo S, Kondo S

副論文公表誌

- 1) FADD gene therapy using the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter to restrict induction of apoptosis to tumors in vitro and in vivo (テロメラーゼ触媒ユニットのプロモーターを利用した FADD 遺伝子による癌特異的アポトーシス誘導遺伝子治療). *Anticancer Res* 21(3B): 1937-1943 (2001) Koga S, Hirohata S, Kondo Y, Komata T, Takakura M, Inoue M, Kyo S, Kondo S
- 2) Treatment of bladder cancer cells in vitro and in vivo with 2-5A antisense telomerase RNA (テロメラーゼ RNA に対する 2-5A アンチセンスを利用した膀胱癌遺伝子治療). *Gene Ther* 8(8): 654-658 (2001) Koga S, Kondo Y, Komata T, Kondo S
- 3) CD8+ T cells produce RANTES during acute rejection of murine allogeneic skin grafts (マウス皮膚移植モデルにおいて CD8+ T 細胞は RANTES を産生する). *Transplantation* 67 (6): 854-864 (1999) Koga S, Novick AC, Toma H, Fairchild RL
- 4) Treatment of prostate cancer in vitro and in vivo with 2-5A-anti-telomerase RNA component (テロメラーゼ RNA に対する 2-5A アンチセンスを利用した前立腺癌遺伝子治療). *Oncogene* 19 (18): 2205-2211 (2000) Kondo Y, Koga S, Komata T, Kondo S
- 5) Prolonged class II MHC disparate skin allograft survival by treatment with antibodies to the chemokine Mig (Mig (ケモカインのひとつ) に対する抗体投与により、MHC class II 抗原のみ異なるマウス皮膚移植において移植片は生着が延長する). *Transplant Proc* 33 (1・2): 549-550 (2001) Koga S, Kobayashi H, Novick AC, Toma H, Fairchild RL
- 6) Alloantigen-specific CD8 (+) T cells stimulate endothelial cells to produce the T-cell chemoattractants IP-10 and Mig (アロ抗原特異的 CD8+ T 細胞は血管内皮細胞を刺激し、IP-10 と Mig という活性化リンパ球を遊走させるケモカインを産生させる). *Transplant Proc* 33 (1・2): 459-460 (2001) Koga S, Kobayashi H, Novick AC, Toma H, Fairchild RL
- 7) T cell infiltration into class II MHC-disparate allografts and acute rejection is dependent on the IFN-gamma-induced chemokine Mig (MHC class II 抗原のみ異なるマウスの拒絶反応の主体は、Mig というケモカインに遊走させられた T 細胞によるところが大きい). *J Immunol* 63(9): 4878-4885 (1999) Koga S, Auerbach MB, Engeman TM, Novick AC, Toma H, Fairchild RL