

# 細胞がん化の原理に基づいた 真にがん細胞特異的アプローチ法

関西学院大学 理工学部 生命科学科  
教授 大谷 清

# がん細胞特異的アプローチの必要性

- 外科的切除不能のがんには、放射線や抗がん剤療法などが用いられている。
- これらの治療法は、増殖している細胞を優先的に傷害する。
- 従って、がん細胞だけでなく正常な増殖細胞も傷害し、副作用を生じうる。
- 副作用を生じない程度に治療を控える必要があり、根治治療が困難となることが多い。
- 副作用を防ぐためには、正常な細胞に影響を及ぼさないよう、がん細胞特異的にアプローチする必要がある。

# 従来技術とその問題点

【免疫療法】がん細胞は自己の細胞由来であり、かつ既に免疫監視機構をかいくぐって生じているため、再度免疫反応を誘導することが難しい。

【分子標的療法】特殊ながんに限られ、普遍的ではない正常細胞にも多少発現しているものが多い。

【テロメラーゼ発現に基づくhTERTプロモーター】幹細胞にもテロメラーゼが発現しているため、幹細胞に影響を及ぼす可能性がある。

【亢進したE2F活性】正常な増殖細胞でもE2Fは活性化されているため、正常な増殖細胞に影響を及ぼす可能性がある。

【CDK阻害剤】正常な増殖細胞でもCDKは活性化されているため、正常な増殖細胞に影響を及ぼす可能性がある。

# 新技術の特徴

- 細胞がん化のメカニズムに基づく。
- 原理的に、真にがん細胞特異的と考えられる。
- 原理的に、がんの臓器の由来を問わず、普遍的に機能すると考えられる。
- 制御された増殖をする正常な細胞と異常な増殖をするがん細胞を識別できる。

# 新技術の原理

- 細胞がん化の抑制には、2大がん抑制経路であるRB経路とp53経路が主要な役割を果たしている。
- ほぼ全てのがんでRB経路とp53経路が傷害されている。
- その結果として、がん細胞にはRBの制御を外れた**特異**E2F活性がある(増強しているだけではない！)。
- この特異なE2F活性は、がん細胞で単に亢進しているE2F活性とは**機能が異なる**。
- この特異なE2F活性は、がん化の原理に基づくため、正常な細胞には存在しない。
- この特異なE2F活性に基づけば、真にがん細胞特異的にアプローチできると考えられる。

## RB経路

- RB経路は、転写因子E2Fを主な標的としている。
- E2Fは、細胞増殖に必要な一連の増殖関連遺伝子の発現を制御している。
- RBは転写因子E2Fと結合し、E2Fの標的遺伝子発現を抑を抑制することによってがん化を抑制している(次頁図左)。
- ほぼ全てののがんでRB経路に異常があり、E2Fの活性が亢進し細胞増殖が促進されている(次頁図右)。

# RB経路

正常状態

CDKインヒビター



サイクリン/CDK



転写抑制



増殖関連  
遺伝子



増殖抑制



がん化抑制

がん性変化

~~CDKインヒビター~~



サイクリン/CDK ↑



転写活性化



増殖関連  
遺伝子



増殖促進



がん化

## p53経路

- p53は、細胞にがん性変化が生じた時に、アポトーシス（細胞死）または細胞老化を誘導することによりがん化を抑制している。
- p53ががん性変化を感知する機構は、p53の上流の活性化因子であるARFをコードしているARF遺伝子のがん性変化を特異的に感知することによる（次頁図左）。
- ほぼ全てのがんでp53経路に異常があり、アポトーシスおよび細胞老化が起こらなくなっている（次頁図右）。

# p53経路

正常細胞

がん細胞

がん性変化



ARF ↑



Mdm2



p53 ↑



アポトーシス・細胞老化



がん化抑制

がん性変化



~~ARF~~



Mdm2 ↑



~~p53~~



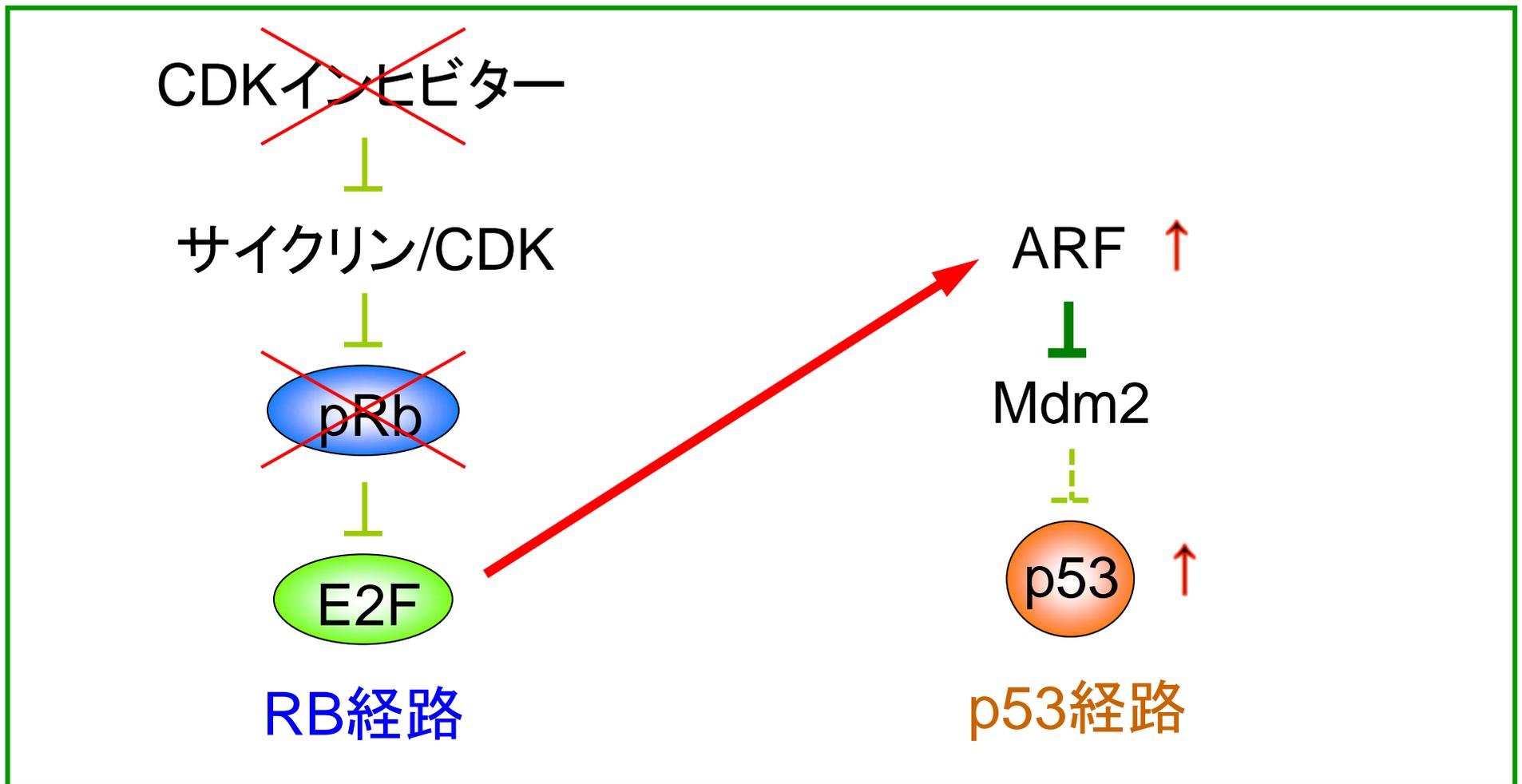
~~アポトーシス・細胞老化~~



がん化

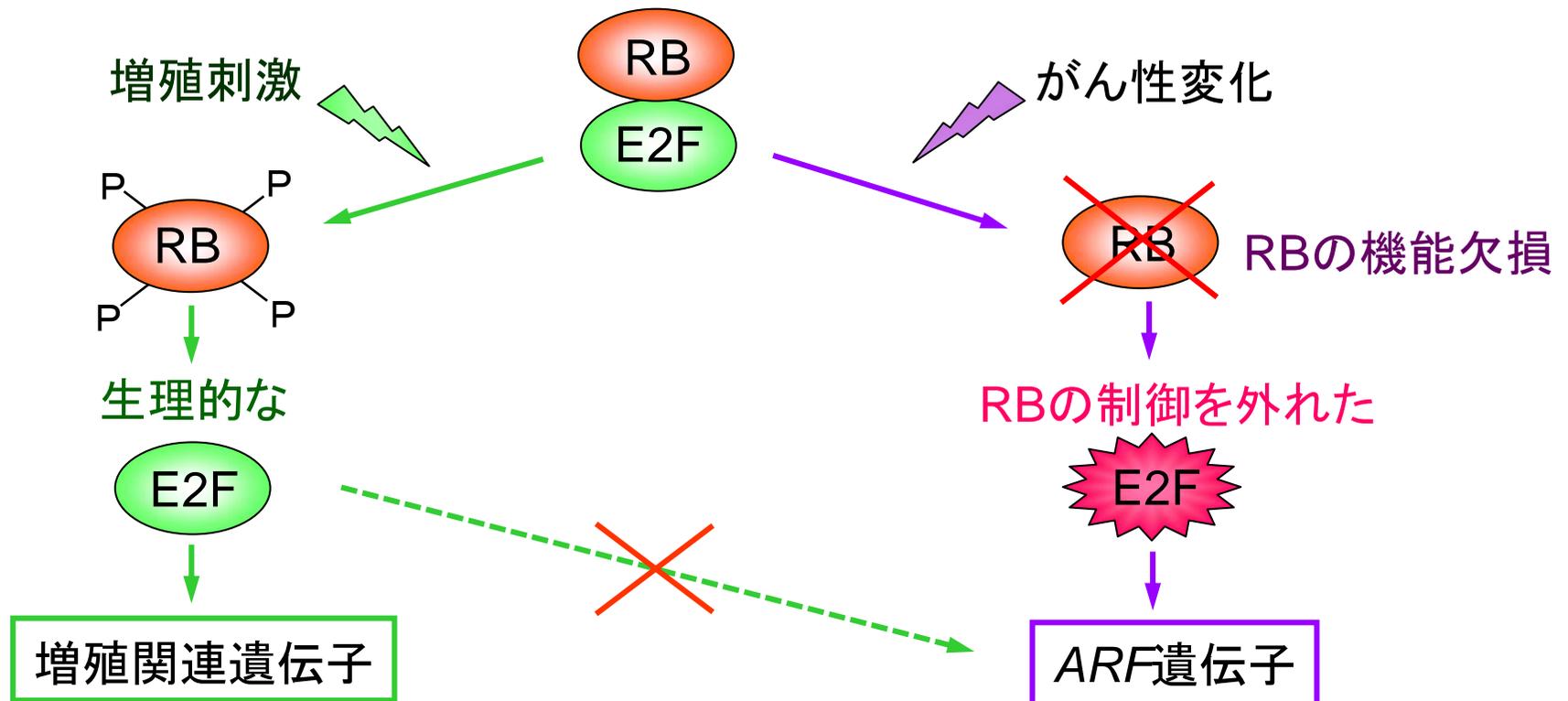
## E2FによるRB経路とp53経路のリンク

RB経路の異常によってE2Fが活性化されると、  
ARF遺伝子を活性化することによりp53を活性化する。



## E2FによるARF遺伝子の制御の特殊性

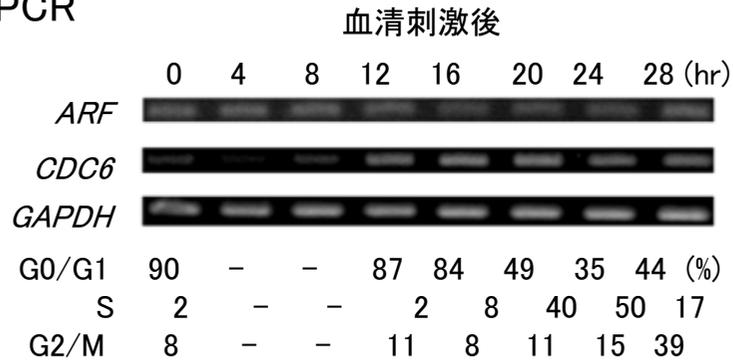
- 増殖刺激によってRBが生理的に不活性化されることで誘導された**生理的なE2F**はARF遺伝子を全く活性化しない。
- がん性変化に伴うRBの強制的な不活性化によって誘導された**RBの制御を外れたE2F**が特異的にARF遺伝子を活性化する



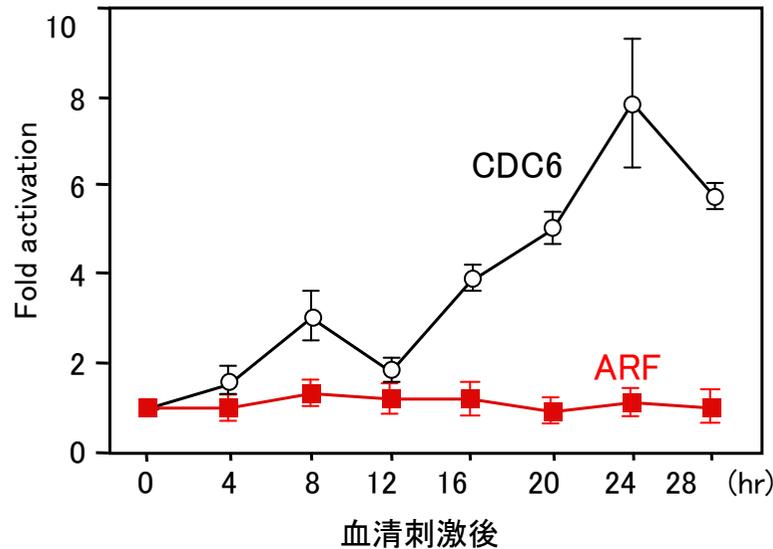
# ARF遺伝子は、RBの制御を外れたE2Fで特異的に活性化される

## 増殖刺激(生理的に活性化されたE2F)

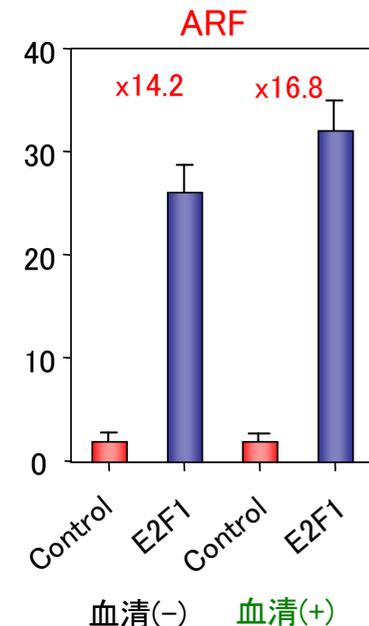
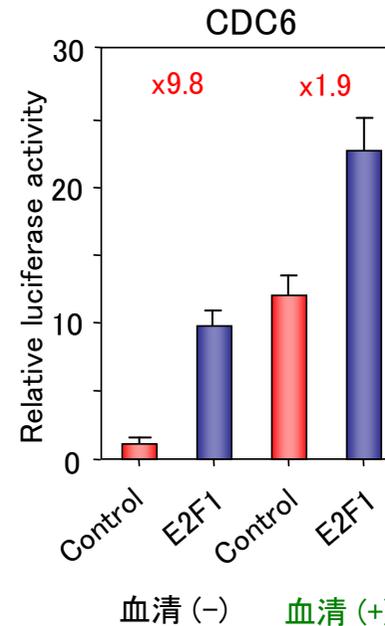
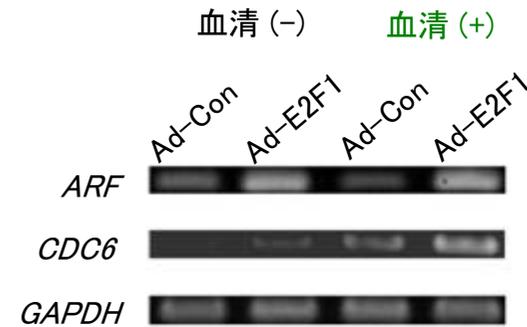
RT-PCR



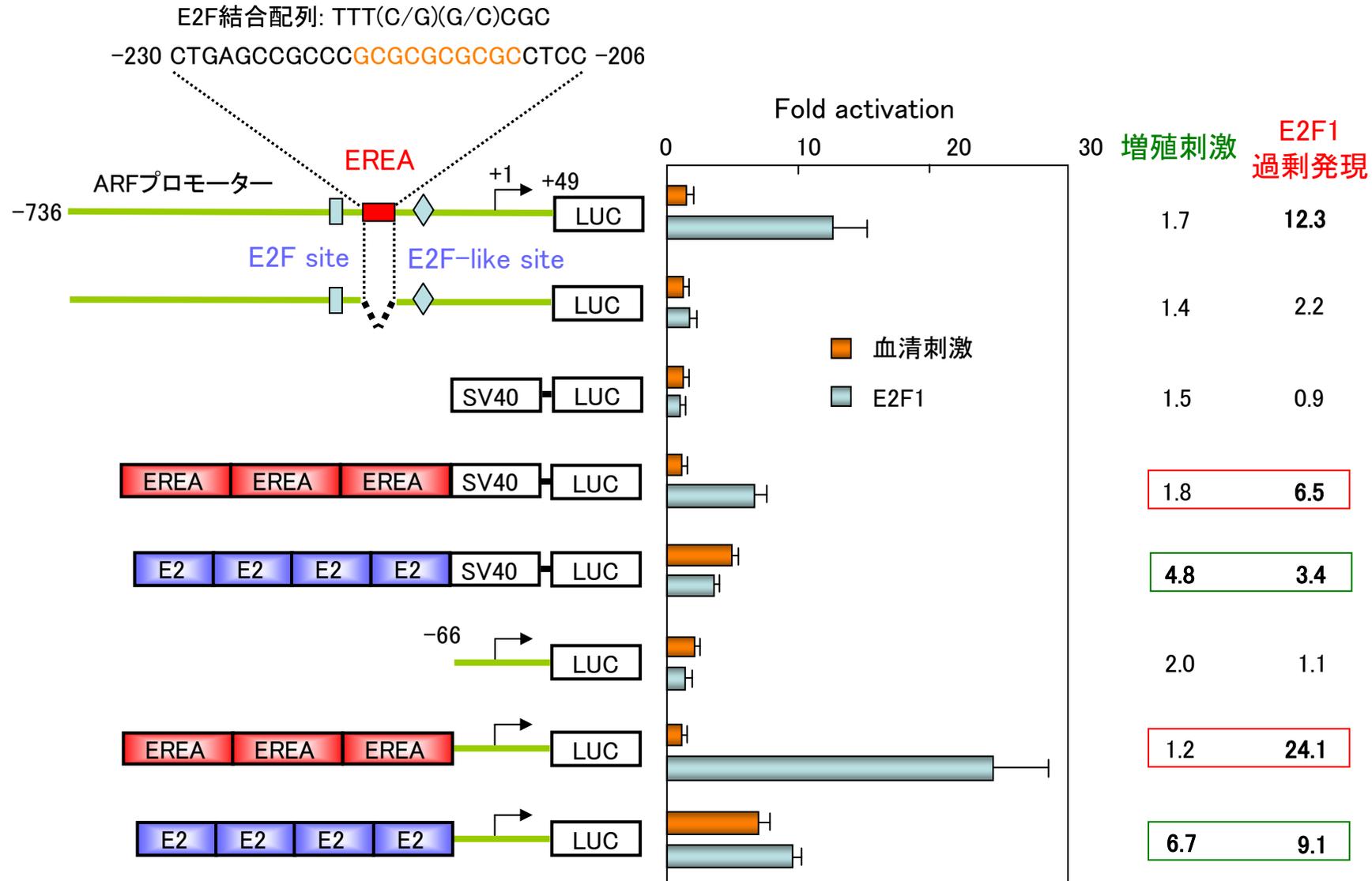
## レポーターアッセイ



## E2F1過剰発現(RBの制御を外れたE2F)



# ARFプロモーターのE2F反応性エレメントEREAは、 制御を外れたE2F活性を特異的に感知する

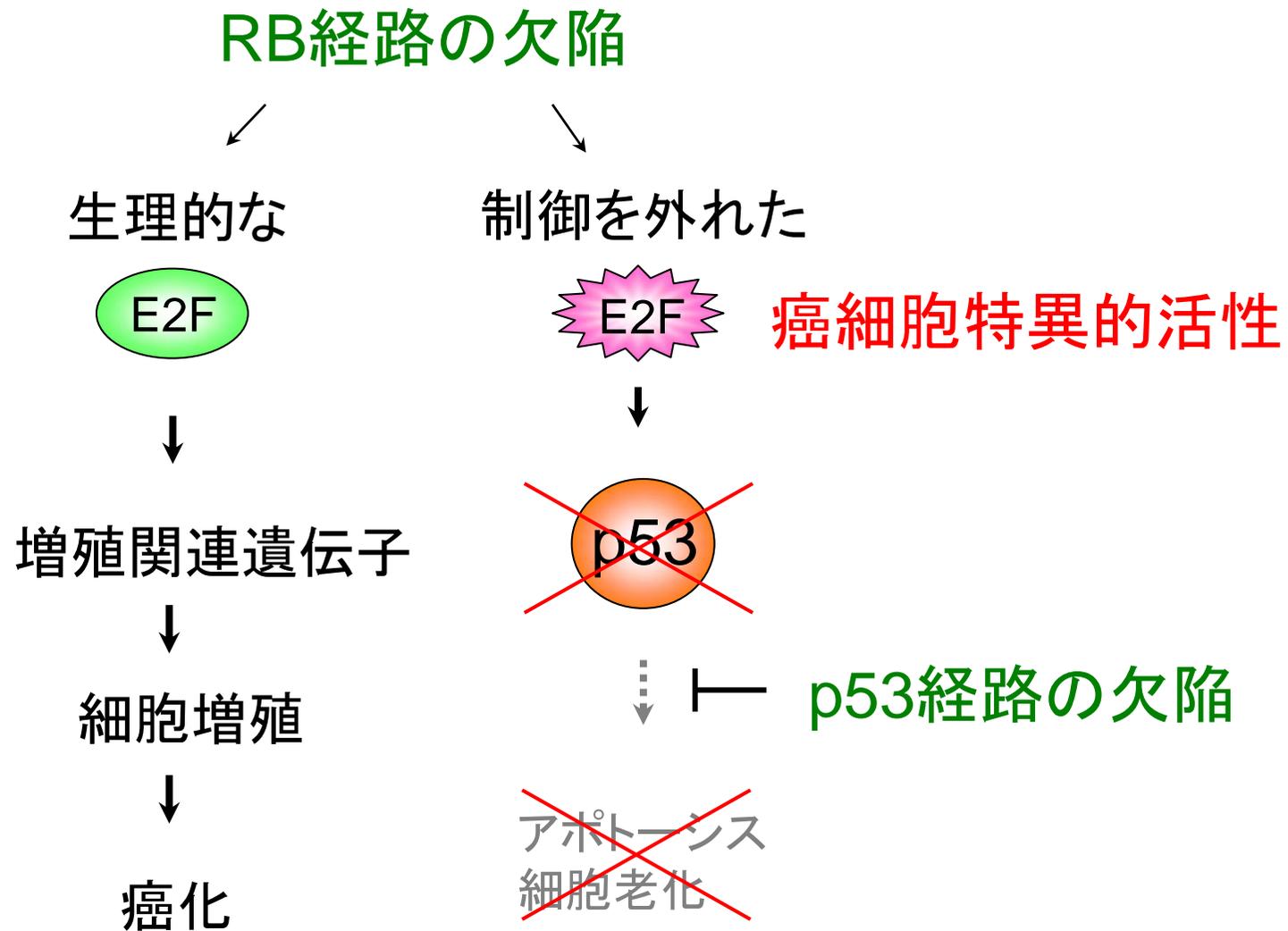


E2: 典型的なE2F標的配列

ヒト正常繊維芽細胞 WI-38

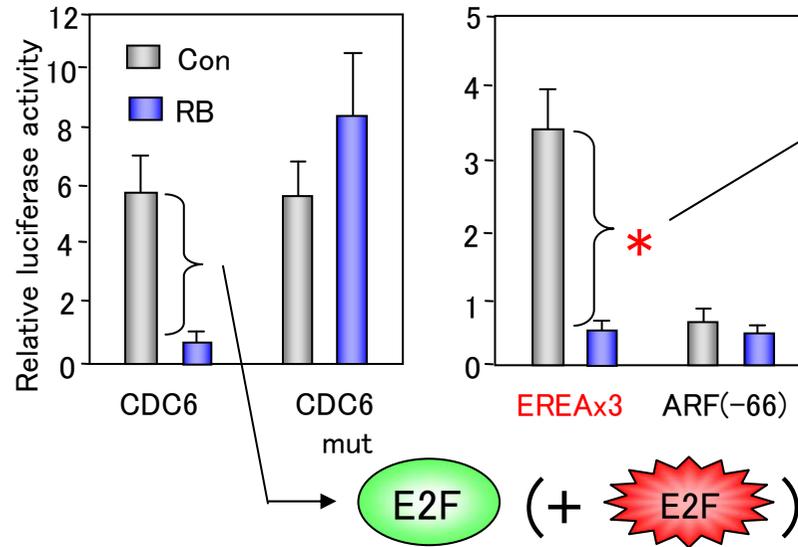
Komori H, EMBO J, 24, 3724, 2005

RB経路の異常によって生じたRBの制御を外れたE2Fは  
p53経路にも異常を伴うことにより許容されている



# RBの制御を外れたE2Fは、がん細胞株特異的に存在する

RB/p53欠損癌細胞株 (5637, C-33A, Saos-2)



癌細胞株特異的活性



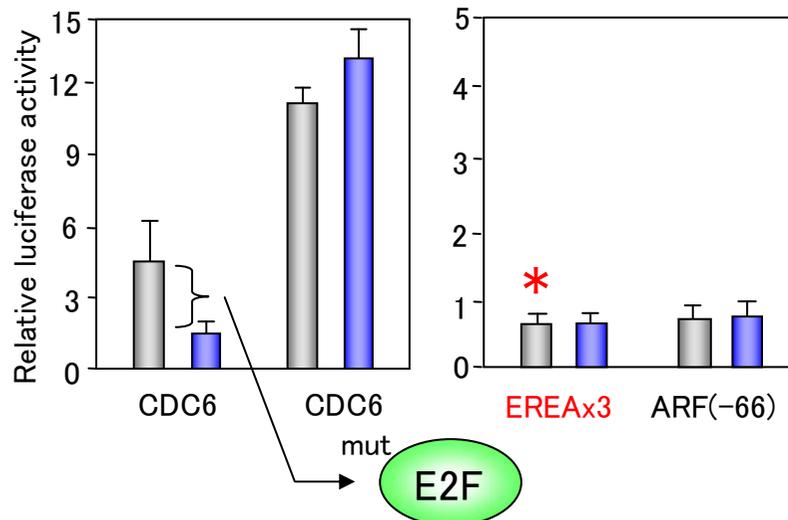
ARF(-66)



EREAx3

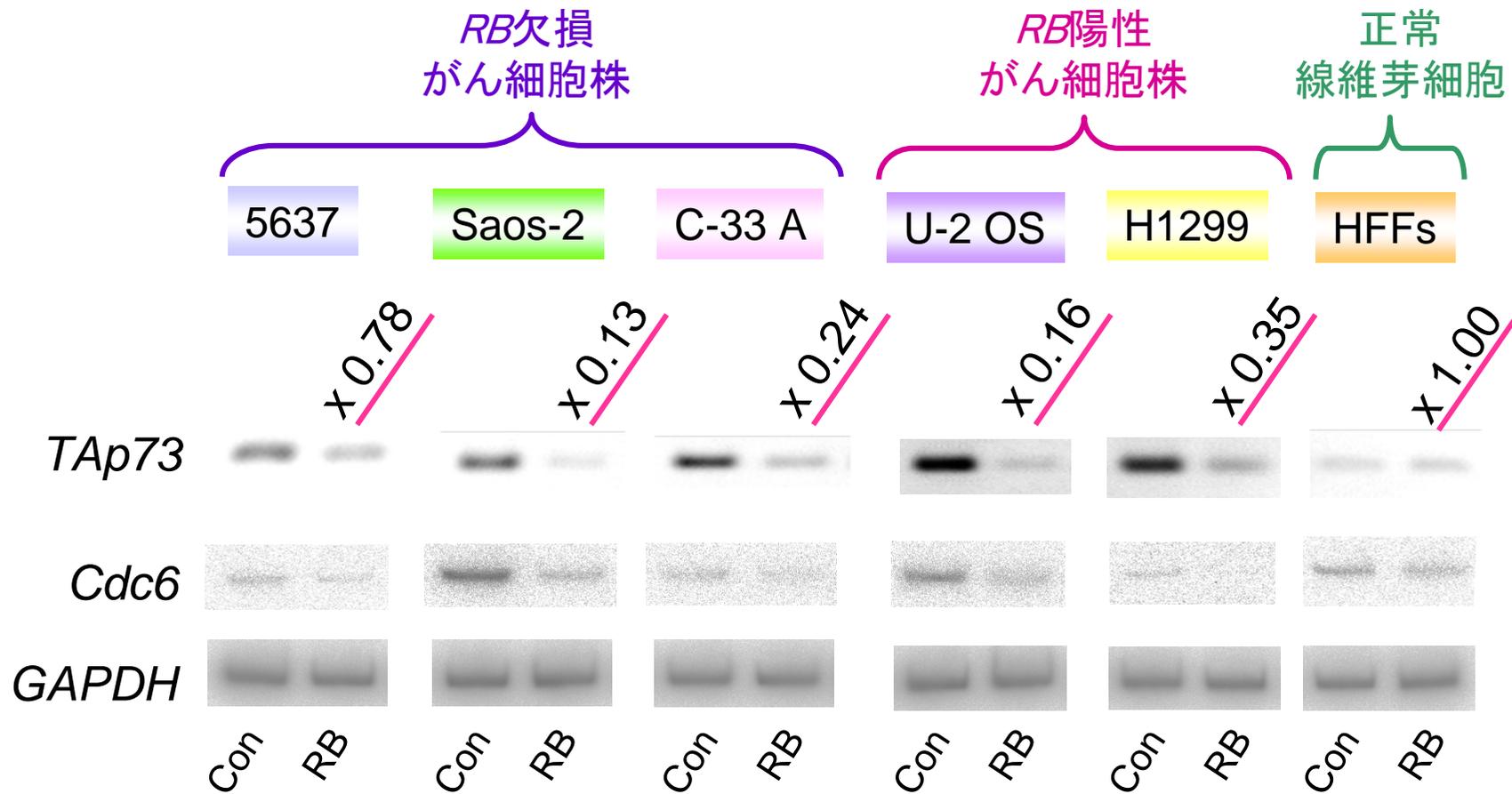


正常増殖細胞 (WI-38, HFF)



# RBの制御を外れたE2Fは、がん細胞株特異的に存在する

- *TAp73*遺伝子は、RBの制御を外れたE2Fで特異的に活性化される。
- *TAp73*遺伝子は、がん細胞株で特異的に活性化されている。



# 想定される用途 (1)

RBの制御を外れたE2Fの**転写活性**を利用する。

1. ARFプロモーターに細胞傷害性遺伝子を接続して、がん細胞特異的に発現させる。
2. ウイルスの複製に必要な遺伝子のプロモーターをARFプロモーターに置き換えて、RBの制御を外れたE2F依存的に増殖するがん細胞溶解性組換えウイルスを作成する。

## 想定される用途 (2)

RBの制御を外れたE2Fの実態を明らかにし、がん細胞特異的なマーカーとして利用する。

1. がんの診断に応用する。
  - ∵ 正常な増殖と異常な増殖を識別できる。
2. 治療におけるがん特異的なマーカー（分子標的）として用いる。

## 想定される用途 (3)

RBの制御を外れたE2Fが生成されるメカニズムを明らかにし、その活性を増強させてがん細胞にアポトーシスを誘導することを試みる。

# 実用化に向けた課題

1. RBの制御を外れたE2F活性をより効率良く利用するための人工プロモーターの改良。
2. RBの制御を外れたE2Fの生化学的な実態の解明。
3. RBの制御を外れたE2Fが生じるメカニズムの解明。

# 企業への期待 (1)

1. RBの制御を外れたE2F活性を効率良く利用し、がん細胞特異的に傷害する技術開発の共同研究を希望。

例) 人工プロモーターの改良

細胞傷害性遺伝子の選択

遺伝子導入法の開発(ウイルスベクターその他)

etc

2. RBの制御を外れたE2Fの実態解明の共同研究を希望。

→がん細胞特異的なマーカーとして診断や治療への応用の可能性を探索する。

## 企業への期待 (2)

3. RBの制御を外れたE2Fが生じるメカニズムの  
解明の共同研究を希望。

∴メカニズムが明らかとなれば、その活性を増強させて  
がん細胞にアポトーシスを誘導する可能性が生じる。

付)メカニズムが分からない段階でも、既存の薬剤の中  
からRBの制御を外れたE2F活性を増強する薬剤を  
スクリーニングすることは可能である。

# 産学連携の経歴

2012年-2013年

JST研究成果展開事業

研究成果最適支援プログラムA-STEP

FSステージ探索タイプ

研究課題名；

『がん細胞特異性のより高いがん細胞傷害性  
組換えアデノウイルスの開発』

お問い合わせ先

関西学院大学  
研究推進社会連携機構

TEL : 079-565-9052

FAX : 079-565-7910

e-mail: [ip.renkei@kwansei.ac.jp](mailto:ip.renkei@kwansei.ac.jp)