

論文審査の結果の要旨

氏名 長谷川 大記

本論文は3章からなり、第1章ではグアニン四重鎖リガンド Telomestatin の DNA 損傷メカニズムについて、第2章では Telomestatin が神経膠腫幹細胞 (glioma stem cells: GSCs) の複製ストレス応答経路に与える影響について述べられている。第3章はこれらの総括である。

本論文の背景として、テロメアをはじめグアニンに富む塩基配列を有する核酸は、グアニン四重鎖 (G-quadruplex: G4) と呼ばれる特殊な高次構造を形成することが知られている。論文提出者は、放線菌由来の天然物質である Telomestatin が G4 を安定化して制がん効果を発揮すること、とりわけ、難治がんの一種である神経膠芽腫のがん幹細胞である GSCs に強い増殖阻害効果を示すことに着目し、その分子メカニズムを詳細に解析している。

第1章では、まず、ヒト GSCs および血清刺激によりこれを分化させて生じさせた非幹神経膠腫細胞 (non-stem glioma cells: NSGCs) に Telomestatin を処理すると、前者が高感受性を示すことが述べられている。Telomestatin はテロメア G4 を安定化してテロメラーゼの働きを抑えるが、G4 安定化活性を持たないテロメラーゼ阻害剤 BIBR1532 では、GSC 選択

的な増殖阻害効果は認められなかった。このことから、Telomestatin の GSC 選択的増殖阻害効果はテロメラーゼ酵素活性の阻害によるものでなく、テロメア DNA の即時的な機能不全を誘導することによってもたらされていると推論している。これと一致し、Telomestatin を処理した GSCs では、テロメアの保護に必須のタンパク質である TRF2 がテロメアから遊離することを観察している。Telomestatin がテロメア G4 を攻撃することを支持する所見として、同薬剤を処理した GSCs の核内に生じる DNA 損傷応答因子のフォーカスがテロメアと共局在する割合が、非特異的アルキル化剤テモゾロミド処理によって生じるフォーカスの場合と比較して有意に高いことを示している。一方で、テロメア以外のゲノム領域においても、複製および転写に依存するかたちで Telomestatin 誘導性の DNA 損傷が生じることを示している。これら一連の実験結果は、G4 を安定化する「G4 リガンド」としての Telomestatin の特性を支持するものである。また、一般には治療に対する抵抗性が高いとされている GSCs が、G4 の過度な安定化にはむしろ高感受性であるという事実は、がん幹細胞の特性を捉えた記述として斬新なものである。

第 2 章では、Telomestatin が GSCs 選択的な増殖抑制効果を示すメカニズムについて検討している。まず、G4 を特異的に認識する抗 G4 抗体を用いて G4 の存在量を検討したところ、GSCs と NSGCs で差異が認められなかったことが述べられている。これと一致し、Telomestatin 処理による DNA

の複製ストレスは、二つの細胞群で同じように生じることが確認されている。一方、GSCs では、複製ストレスに対する応答シグナルを生じさせる ATR-Chk1 経路を構成する、Chk1 のタンパク質発現レベルが NSGCs と比較して顕著に高く、両者の細胞で同等の複製ストレスがあった場合に、GSCs の方が過剰な応答シグナルを発生させると推論している。論文提出者はさらに、GSCs が ATR 阻害剤にも高感受性であることを見出し、同細胞が ATR-Chk1 経路の正・負いずれの機能修飾に対しても脆弱性を示すと結論づけている。これら一連の成果は、G4 動態の異常感知システムががん幹細胞と非幹がん細胞とで異なることを示唆しており、がん幹細胞を標的とした治療薬の開発戦略を構築する上で、きわめて有用な知見である。

以上のように、本論文は G4 の過度な安定化に対する細胞内応答を詳細に記述しており、また、難治がんである神経膠芽腫におけるがん幹細胞と非幹がん細胞の性質の新たな相違点を明らかにすることに成功している。これら二つの成果を有機的に結びつけ、がん幹細胞を標的とするユニークな創薬シーズとしての G4 リガンドの作用機序を提唱した学術的意義は大きい。

したがって、博士（医科学）の学位を授与できると認める。

以上1, 780字