福井大学リポジトリ
UNIVERSITY OF FUKUI REPOSITORY

p53

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2007-08-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松本, 英樹, Matsumoto, H メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10098/1056

特集

第32回放射線による制癌シンポジウム
新しい放射線治療戦略に向けて
—近未来の臨床放射線生物学の展望—

指定演題

p53

松本英樹*1

The Tumor Suppressor Activity of Wild-type *p53* and a Gain-of-Function of Mutant *p53*: Matsumoto H (Dept of Experimental Radiology and Health Physics, Fukui Medical Univ; At present: Dept of Experimental Radiology and Health Physics, Faculty of Medical Science, Fukui Univ)

The tumor suppressor gene, *p53* plays a central role in the protection against DNA damage and other forms of physiological stress primarily by inducing cell cycle arrest or apoptosis. Mutation of *p53*, which is the most frequent genetic alteration detected in human cancers, inactivates these growth regulatory functions and causes a loss of tumor suppressor activity. In some cases, the mutation also confers tumor-promoting functions, such as the transcriptional activation of genes involved in cell proliferation, cell survival and angiogenesis. Consequently, cells expressing some forms of mutant *p53* show enhanced tumorigenic potential with increased resistance to anti-cancer drugs and radiation.

Key words: Cancer, *p53*, Mutation, Loss-of-function, Gain-of-function

Jpn J Cancer Clin 49(12): 1519～1523, 2003

はじめに

癌抑制遺伝子産物p53は，①*p53*遺伝子はヒト癌細胞において突然変異の頻度が最も高い，②Li-Fraumeni症候群は配偶子の*p53*遺伝子の変異による癌多発家系である，③*p53*欠損マウスは正常に発生するが非常に発癌率が高いなどの理由から発癌を抑制する重要な蛋白質の1つと認識されている．*p53*遺伝子の突然変異は癌抑制活性の喪失を招くが，ある種の突然変異では細胞増殖促進能および癌化能を獲得し，活性型癌遺伝子のような振る舞いをする．この癌化能は多段階発癌過程のイニシエーションおよびプログレッションで発揮されると考えられている．本稿では正常型および変異型*p53*遺伝子の特徴を述べ，それらを持つ腫瘍に対する治療戦略について概説する．

1. *p53*蛋白質の生理活性

転写因子であるp53の活性化は，DNA複製および細胞分裂の前にDNA修復を行うための時間を稼ぐためにしばしば細胞周期停止を誘導する．p53によるG_1-arrestのメカニズムは，Cdksを阻害する*p21/WAF1*を転写誘導し，結果として癌抑制遺伝子産物であるRbのリン酸化が抑制されるためにRbがE2Fに結合した状態が維持され，S期でのDNA複製に必要な酵素および基質の産生に関わる遺伝子群の転写が抑制され，細胞はG_1/S境界で細胞周期を停止する．p53によるG_2-arrestのメカニズムは，Cdc25によるCdk1（Cdc2）の脱リン酸化を阻害する14-3-3σを転

*1 福井医科大学放射線基礎医学（現福井大学医学部放射線基礎医学）

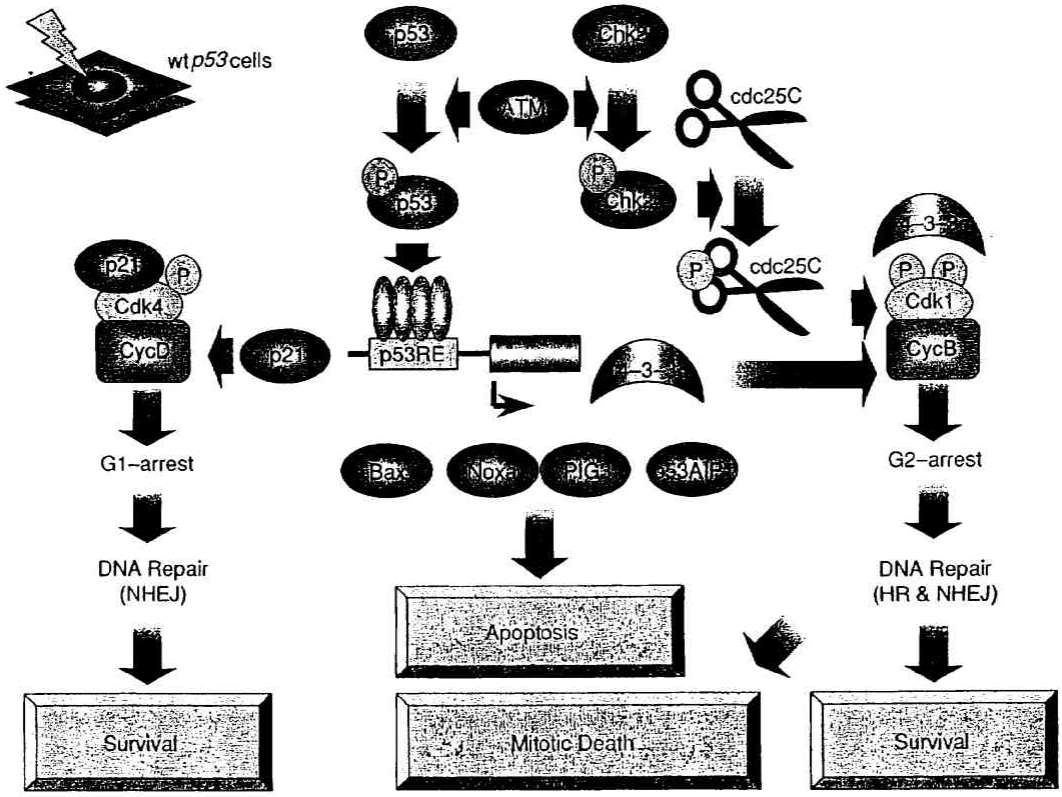

図1　p53による細胞周期制御

写誘導し，結果としてCdk1がリン酸化された状態で維持されるために細胞はG_2/M境界で細胞周期を停止する．G_2-arrestの誘導は，ATMによるCdc25阻害因子であるChk2の誘導と共同して行われる．

しかしながら手に負えないほどの傷をDNAに負う，あるいはDNA修復に失敗した場合には，p53によりアポトーシスをプロモートするBax, Noxa, p53AIP-1などが誘導され，細胞はアポトーシスへの道を辿ることとなる（図1）．

2. *p53*遺伝子の突然変異による生物学的効果

1）突然変異のタイプ

*p53*遺伝子の突然変異には，欠損（deletion）・挿入（insertion）・短縮（truncation）・点突然変異（point mutation）などが認められ，多くの場合ヘテロ接合性の消失（Loss of heterozygosity, LOH）により正常アリルが失われている．*p53*遺伝子の突然変異の85%以上が単一のアミノ酸置換によるミスセンス突然変異である．*p53*遺伝子の突然変異の90%以上は，塩基配列特異的DNA結合ドメインで認められ，その50%がコドン175, 248, 249, 273, 282で認められている[1,2]．

2）突然変異の生物学的効果

*p53*遺伝子の突然変異の癌化への関与には以下の3つの機構が考えられる（図2）．

①正常型p53の癌抑制機能の消失（Loss-of-function）

②ドミナントネガティブによる正常型p53機能の抑制

③変異型p53の癌化促進機能の獲得（Gain-of-function）

①の場合，先述のp53を中心とするDNA損傷ストレスに対する応答，細胞周期のチェックポイント・DNA修復の誘導，アポトーシスの誘導，血管新生の抑制などができなくなる．また②のように，変異型p53は塩基配列特異的なDNA結合

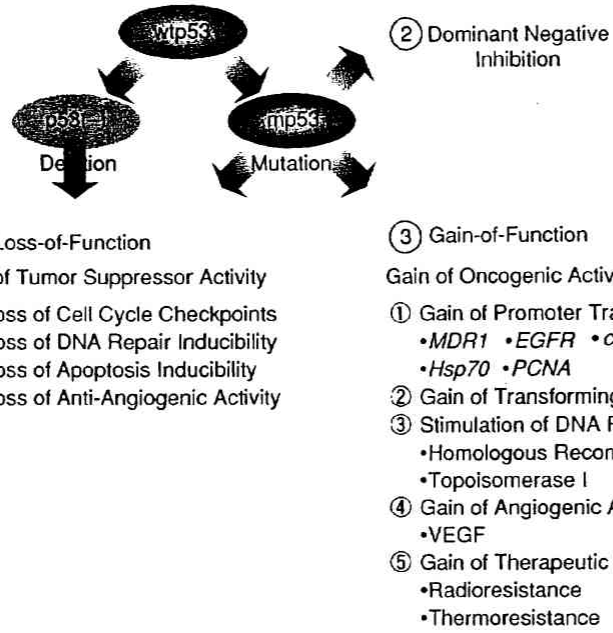

図2　*p53* 遺伝子の突然変異による生物学的効果

能は失われているものの安定化され高レベルに細胞内に蓄積されるため，正常アリルから発現した正常型p53とヘテロ四量体を形成し，正常型p53の機能を阻止することが知られている．さらに③のように，変異型p53そのものが癌化促進能を獲得していることが報告されている．この現象を最初に報告したのはWolfら[3]であり，変異型p53の発現誘導により，細胞生着率，不死化率および悪性形質転換率が上昇することが明らかにされた．

3）**Gain-of-Function** のメカニズム

変異型p53の癌化促進機能の獲得（Gain-of-Function）のメカニズムは未だ明らかにされていないが，いくつかのモデルが報告されている[4]．

（1）転写活性化による癌化促進

LUCあるいはGFPレポーター遺伝子アッセイから変異型*p53*細胞に特異的な遺伝子の転写促進が見い出されている．その主なものは，*MDR1*, *EGFR*, *PCNA*, *VEGF*, *IL-6*, *bFGF*, *Hsp70*, *BAG-1*, *c-myc* などである．これらの遺伝子のプロモーター領域には正常型p53の結合部位（p53RE）は存在せず，これらの転写促進は，変異型p53がCBP/p300やTAFsなどの他の転写因子に結合することによりもたらされるものと考えられている[5]．放射線癌治療において問題となるのは，この変異型p53の機能により癌細胞が放射線あるいは制癌剤抵抗性となることである．これには変異型p53による*MDR1*, *BAG-1*, *c-myc* の転写活性化による放射線あるいは制癌剤誘発アポトーシスの抑制が大きく関与している．

（2）p53ファミリー分子のドミナントネガティブ阻害

変異型p53は正常型p53とヘテロ四量体を形成して正常型p53の機能を阻害するだけでなく，p53ファミリー分子であるp73あるいはp63とも複合体を形成して，それらの機能を阻害する可能性が報告されている[6]．

（3）蛋白質間相互作用による癌化促進

変異型p53の癌化促進機能の獲得には蛋白質間の相互作用も関与していると考えられる．変異型p53とHsc70/Hsp70との結合は以前から報告されており，細胞増殖促進に寄与している可能性が考えられる．

変異型p53はトポイソメラーゼIと結合していることが知られており，トポイソメラーゼIの活性化により遺伝的組換えが促進され，遺伝的不

安定性を誘引する可能性が考えられる[7]．さらにこの性質が放射線誘発組換え修復系の促進につながる可能性も考えられ，これが放射線抵抗性の獲得に寄与しているのかも知れない．また変異型p53はMdm2と結合していることも知られており，Mdm2の安定化に寄与し，RbおよびP19/ARFを不活性化させることにより細胞の過増殖および染色体異常を誘発することが考えられる[8]．

3. なぜ変異型*p53*細胞は放射線抵抗性なのか？

*p53*遺伝子の突然変異によるLoss-of-FunctionおよびGain-of-Functionについて概説した．では，なぜ変異型*p53*細胞および腫瘍は放射線抵抗性なのであろうか？

1つの興味深い事実は，放射線照射後に認められる細胞周期の一時停止において，G_1-arrestは正常型*p53*細胞においてのみ観察されるのに対し，G_2-arrestは正常型および変異型*p53*細胞いずれにおいても観察されるということである．言い換えると，G_1-arrestの誘導経路はほぼ完全にp53依存性であるのに対し，G_2-arrestの誘導経路はp53依存性および非依存性の両者が存在するということである．変異型*p53*細胞は，巧妙にこのp53非依存性の誘導経路を利用してG_2-arrestへと導くのである．次に変異型*p53*細胞が講じる手段は，Cdk1/Cyclin Bの活性が低下したままの状態を維持し，G_1期とS期を繰り返すEndoduplication cycleを形成することである[9]．

これにより変異型*p53*細胞は，G_1期においてNon-homologous end joining（NHEJ）によるDNA修復を，S期においてHomologous recombination(HR)によるDNA修復を繰り返し行い，損傷が完全に修復されてからSomatic reductionという過程を経て細胞周期を回復させるのである(図3)．その結果，変異型*p53*細胞はより放射線抵抗性となると理解できる．また，このモデルを想定することにより癌細胞において多倍体が多いことも容易に理解できる．

4. *p53*遺伝子型からみた癌治療戦略

変異型*p53*腫瘍が放射線抵抗性であることから，*p53*遺伝子のステータスを先行指標とし，変異型*p53*遺伝子を分子標的としたオーダーメードによる放射線癌治療法の確立を目指した研究が行われている．

(1) *p53*遺伝子治療と放射線治療との併用療法

*p53*欠損および変異型*p53*腫瘍へ正常型*p53*遺伝子を導入し，細胞周期調節およびアポトーシス誘導などの放射線に対するp53の応答性を回復させ，より効率よく腫瘍細胞をアポトーシスへ導くことを目的として実験的に多くの結果が報告されている．すでに岡山大学では*p53*遺伝子治療と放射線治療あるいは化学療法との併用療法の臨床治験が行われている．

(2) 変異型*p53* mRNAに対する分子標的治療

渡邊らは，変異型*p53*細胞に存在する変異型*p53* mRNAを分子標的とし，Trans-Splicing Ribozymeを作用させて正常型*p53* mRNAに変換させて正常型p53の発現を促し，放射線治療あるいは化学療法を併用することにより，変異型*p53*腫瘍の難治性を克服する試みを行っている．培養癌細胞においては，変異型*p53* mRNAの正常型*p53* mRNAへの変換には成功しており，変異型p53のGain-of-Functionによる*PIG3*の発現抑制および*MDR1*の発現促進の解除が可能であったことを報告している[10]．

(3) 変異型p53蛋白質に対する分子標的治療

大西らは，変異型*p53*細胞に存在する変異型p53を分子標的とし，化学シャペロン作用を有するグリセロールを作用させて正常型p53に変換させ，放射線治療あるいは化学療法を併用することにより，変異型*p53*腫瘍の難治性を克服する試みを行っている．培養癌細胞においては，変異型*p53*細胞の放射線，シスプラチン，温熱に対する感受性が亢進することを報告しており[11]，ヌードマウス移植腫瘍においても抗腫瘍効果の増強を認めている．

まとめ

以上，*p53*遺伝子の突然変異による癌細胞およ

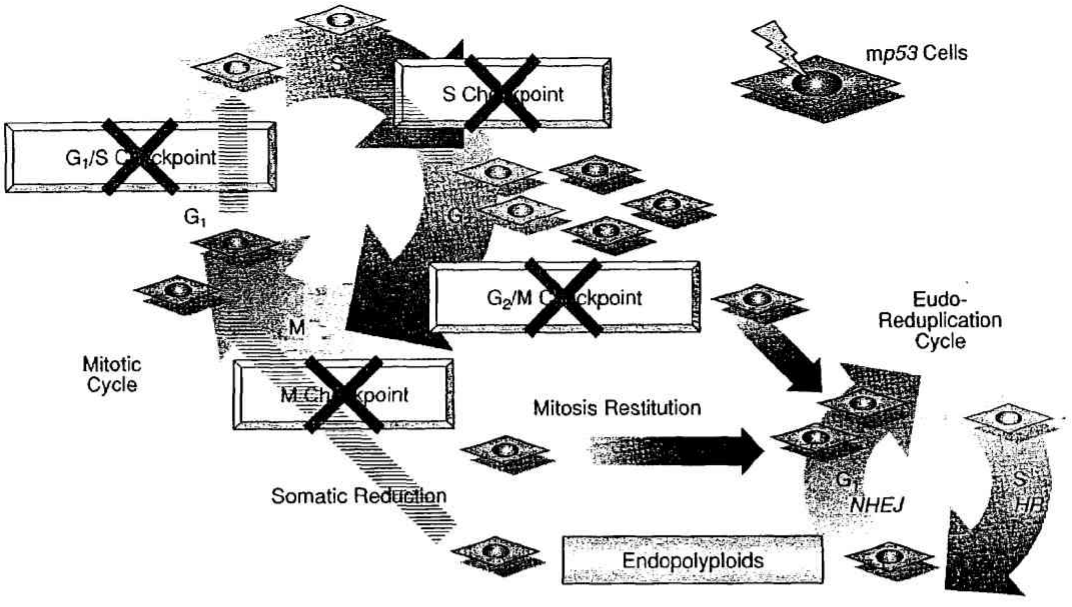

図3　変異型 *p53* 細胞はなぜ放射線抵抗性か？

び腫瘍の放射線抵抗性の獲得とそれに対する治療戦略について概説した．今後の放射線癌治療の発展を祈念する．

最後になりましたが，執筆の機会を与えていただきました関係各位に深謝いたします．

文　献

1) www.iarc.fr/p53/
2) www.lf2.cuni.cz/homepage.html
3) Wolf D, Harris N, Rotter V: Reconstitution of p53 expression in a nonproducer Ab-MuLV-transformed cell line by transfection of a functional p53 gene. *Cell* 38: 119–126, 1984
4) Cadwell C, Zambetti GP: The effects of wild-type p53 tumor suppressor activity and mutant p53 gain-of-function on cell growth. *Gene* **277**: 15–30, 2001
5) Kung AL, Rebel VI, Bronson RT, et al: Gene dose-dependent control of hematopoiesis and hematologic tumor suppression by CBP. *Genes Dev* **14**: 272–277, 2000
6) Di Como CJ, Gaiddon C, Prives C: p73 function is inhibited by tumor-derived p53 mutants in mammalian cells. *Mol Cell Biol* **19**: 1438–1449, 1999
7) Albor A, Kaku S, Kulesz-Martin M: Wild-type and mutant forms of p53 activate human topoisomerase I : a possible mechanism for gain of function in mutants. *Cancer Res* **58**: 2091–2094, 1998
8) Peng J, Chen L, Li C, et al: Stabilization of the MDM2 oncoprotein by mutant p53. *J Biol Chem* **276**: 6874–6878, 2001
9) Erenpreisa J, Cragg MS: Mitotic death: a mechanism of survival? A review. www.cancerci.com/content/1/1/1
10) Watanabe T, Bruce A, Sullenger BA: Induction of wild-type p53 activity in human cancer cells by ribozymes that repair mutant p53 transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**: 8490–8494, 2000
11) Ohnishi T, Matsumoto H, Wang X, et al: Restoration by glycerol of p53-dependent apoptosis in cells bearing the mutant p53 gene. *Int J Radiat Biol* **75**: 1095–1098, 1999