

平成 12 年度 長崎大学公開講座

薬学講座「くすりと健康」

第 2 回 平成 12 年 7 月 13 日

「癌治療の標的-p53 タンパク質-」

長崎大学薬学部放射線生命科学研究室 鈴木啓司

1.はじめに

癌の撲滅は健康で健やかな一生を送るために医療に携わるものに科せられた極めて重要な課題の 1 つである。ここ 10 年間の研究で、癌の発症には癌遺伝子産物の変化と癌抑制遺伝子機能の欠損が関与することが明らかにされてきた。その中で、多くの癌細胞で共通して変化が見られる癌抑制遺伝子として p53 遺伝子が同定され、その変異が癌の種類を問わないこと、正常 p53 遺伝子を導入した全ての培養癌細胞で癌細胞の増殖が抑制されたことから、癌遺伝子治療の標的として最も期待されているところである。

本講座では、p53 遺伝子が癌抑制遺伝子として認知されるまでの歴史に始まり、正常 p53 遺伝子により作られる p53 蛋白質の細胞内での機能は何か、p53 機能が欠失することによりなぜヒトは癌になるのか、p53 機能を応用した癌治療はどこまで進んでいるのか、等の疑問に答えていきたい。

2.癌抑制遺伝子 p53 の発見¹

p53 はもともと DNA 腫瘍ウイルスである SV40 によりがん化した細胞内で、SV40 ウイルス遺伝子によって産生されるウイルス蛋白質に結合する分子量 53kDa の細胞蛋白質として 1979 年に同定された。その後、癌遺伝子である myc 等と同様に細胞を不死化させることや、癌遺伝子である活性化 ras 遺伝子と協調して正常細胞を癌化させることから、p53 遺伝子は癌遺伝子の 1 つであると考えられていた。しかしながら 1989 年に p53 遺伝子が存在する第 17 番染色体短腕領域が多くの癌細胞で欠失していることが明らかにされ、p53 遺伝子は癌の抑制に働いている遺伝子ではないかと疑われるようになってきた。ちょうどその頃、これまで研究に用いられていた p53 遺伝子が実は既に突然変異を持つ変異 p53 遺伝子であったことが判明した。さらに正常 p53 遺伝子は細胞増殖に対して負に作用することが確認され、ここにいたって初めて p53 遺伝子は癌抑制遺伝子であると結論付けられたのであった。

3.p53 蛋白質の構造と癌細胞における変異

p53 蛋白質は 393 アミノ酸から成る核蛋白質で、いくつかの機能領域に分けることができる(図 1)。まず N 末端側には転写活性を調節する領域がありこの領域は細胞内で様々なリン酸化を受ける領域でもある。蛋白質中央部には蛋白質全長の約 3 分の 1 を占める領域に塩基配列特異的 DNA 結合領域がある。図 1 で緑で示したこの領域にはオレンジ色で示した領域が散在するが、これは種も越えて保存されている領域で p53 蛋白質の機能に重要な領域であることを意味している。一方、C 末端には 4 量体形成領域や核移行領域が存在し、これら領域は細胞内でアセチル化されることが知られている。図 2 には癌細胞で発見された p53 遺伝子変異の場所を縦軸に発見の頻度を

取って表した。図2からわかるように p53 遺伝子の変異はランダムに起こるのではなく、中央部の塩基特異的 DNA 結合領域ととりわけ種を越えて保存されている領域に集中しているのがわかる。これら領域は変異のホットスポットと呼ばれ、p53 蛋白質の機能解明に大いに役立った²。

p53 遺伝子の変異は多くの癌細胞株や癌組織で検討され、その変異に組織特異性や年齢依存性はないことが明らかにされた。また2個の正常対立遺伝子のうち1個は図2に示すような点突然変異であることが多いが、他方の遺伝子は多くの場合に欠失を伴うことが見いだされている。このことは、2個の対立遺伝子の1つに変異を持った細胞が既に存在し、対立遺伝子の損失によって癌抑制作用が消失すること意味する。事実 p53 遺伝子の片方に既に変異を持った遺伝疾患 (Li-Fraumeni 症候群) が報告されており、同患者由来では正常 p53 対立遺伝子の欠失が癌の発症と深く結びついている。

4 .p53 蛋白質の機能

癌で見られる多くの変異が塩基配列特異的 DNA 結合領域にあることから、p53 蛋白質の機能が DNA との特異的結合によって発現すると考えられていた。1993 年、p53 蛋白質が p21^{Waf1/Cip1} と呼ばれる遺伝子の転写を活性化することが明らかにされて以降³、p53 蛋白質によって誘導される遺伝子が続々と見つかり、今や p53 蛋白質の主要な機能が遺伝子発現制御にあることは疑う余地もない。p53 蛋白質によって遺伝子発現が誘導される遺伝子上流のプロモーターには共通して PuPuPuC(A/T)(T/A)GPyPyPy という配列が同定され、p53 蛋白質は核内で4量体を形成してこの領域に結合することが明らかにされた。p53 蛋白質の結合により誘導される遺伝子の中には図3中で黄色で示したような細胞周期制御に関わるものや、赤色で示したようにアポトーシスの誘導に関与するものなどがある。また、p53 蛋白質により発現が抑制される遺伝子もありそのメカニズムが研究されている。

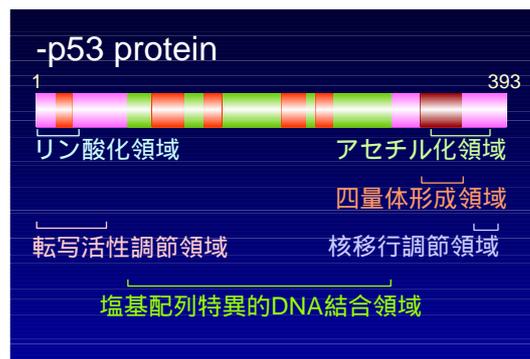


図1 p53 蛋白質のドメイン構造

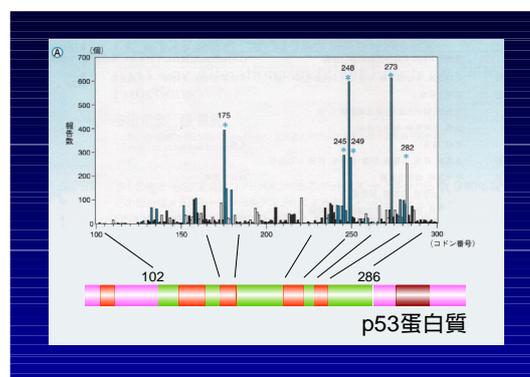


図2 癌における p53 遺伝子の変異

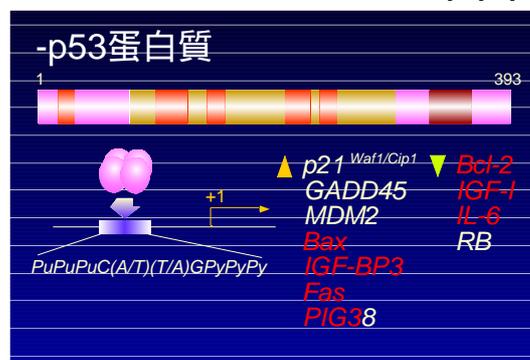


図3 p53 蛋白質による遺伝子発現制御

p53 蛋白質は正常細胞内で極低いレベルで発現が維持されているが、放射線や紫外線あるいは温熱処理など様々なストレスにより急激に安定化され細胞内の発現レベルが上昇する^{4, 5}。それにともない p53 蛋白質に制御される遺伝子発現が誘導されることから、p53 蛋白質はある種のストレス応答蛋白質ではないかと考えられる。さらに下流の遺伝子発現を介して細胞にアポトーシスを起こしたり、細胞周期を停止させ細胞内でゲノムに変異が起こらないようにするゲノムの守護神としての機能を果たしている。

この機能は生体を形作っている細胞が様々な発がん物質に曝された時に必要な機能であることから、p53 機能の欠失が結果としてゲノムの不安定性を招来して細胞内に遺伝子の変異を蓄積しそれが発癌の原因になると考えることができる。一方で、p53 蛋白質は細胞老化過程で短縮したテロメアーからの老化情報を受け取る分子としても知られている。癌細胞では p53 蛋白質の変異により短縮したテロメアーから伝達された情報を受容する分子が存在しないことから、細胞は老化プロセスから逸脱して不死化への道をたどることになる⁶。

5. p53 遺伝子と癌治療

多くの癌細胞で p53 遺伝子に変異あるいは欠失していることから、正常 p53 遺伝子を癌細胞に戻して癌を治療しようとする試みが続けられている。日本でも既に肺癌の p53 遺伝子治療が試みられているが、正常 p53 遺伝子の局所への移入法の確立とよく効率的な p53 遺伝子発現ベクターの開発により、p53 遺伝子による癌治療が何知性の癌の治療法として確立することを期待したい。

一方、遺伝子治療とは別の観点で p53 機能を癌治療に応用しようとする試みも始まっている。既に述べたように、多くの癌細胞では p53 遺伝子に変異が見られる。興味深いことに、変異 p53 蛋白質は細胞内で極めて高いレベルで存在する。そこで、もし変異した p53 蛋白質の構造をもとに戻すことができれば、新たな治療法が期待できる。このようなことから、変異 p53 蛋白質の機能を正常化する物質がスクリーニングされ、p53 蛋白質自身の C 末端のオリゴペプチド⁷、あるいは p53 蛋白質に親和性のある化学物質⁸ が変異 p53 機能を正常化することが証明された。癌細胞を用いた実験では、これらの物質を作用させることにより変異 p53 蛋白質の転写制御能が回復する。これらの方法がどれほど癌治療法として vivo で応用できるかは不明であるが、様々な p53 機能を用いた癌治療の可能性について、様々な角度からの検討が今後も精力的に続けられることを信じてやまない。

6. 参考文献

1. 田矢洋一、野田亮、山本雅、癌遺伝子ハンティング、実験医学バイオサイエンス 4、羊土社、1993 年
2. C. C. Harris. p53 tumor suppressor gene: from the basic research laboratory to the clinic-an abridged historical perspective. Carcinogenesis, 17, 1187-1198, 1996.
3. W. S. El-Deiry, T. Tokino, K. W. Kinzler, and B. Vogelstein. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. Cell, 75, 817-825, 1993.
4. M. Miyakoda, K. Nakahata, K. Suzuki, S. Kodama, and M. Watanabe. Heat-induced G1

arrest is dependent on p53 function but not on RB dephosphorylation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 266, 377-381, 1999.

5. J. C. Ghosh, Y. Izumida, K. Suzuki, S. Kodama, and M. Watanabe. Dose-dependent biphasic accumulation of TP53 protein in normal human embryo cells after X irradiation. *Radiat. Res.*, 153, 305-311, 2000.
6. 実験医学、第 15 卷、15 号、1997 年、羊土社
7. G. Selivanova, V. Iotsova, I. Okan, M. Fritsche, M. Strom, B. Groner, R. C. Grafstrom, and K. G. Wiman. Restoration of the growth suppression function of mutant p53 by a synthetic peptide derived from the p53 C-terminal domain. *Nature Genet.*, 3, 632-638, 1997.
8. B. A. Foster, H. A. Coffey, M. J. Morin, and F. Rastinejad. Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function. *Nature*, 286, 2507-2510, 1999.