

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14377

研究課題名(和文) p53-ISCU経路による鉄制御機構の解明と発癌への寄与の検討

研究課題名(英文) Regulation of iron homeostasis by the p53-ISCU pathway.

研究代表者

谷川 千津(Tanikawa, Chizu)

東京大学・医科学研究所・助教

研究者番号：30422421

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：以前より癌、特に肝臓癌においては、鉄の蓄積が癌の進展または予後に関連することが報告されている。本研究の成果により、癌抑制遺伝子p53が、鉄硫黄クラスターの生合成に関わるISCUの発現誘導を介し、細胞内の鉄濃度を制御することが明らかとなった。このことは、p53の発癌制御機構の解明につながるだけでなく、臨床的な意義も大きいと思われる。p53遺伝子変異やISCU発現減少を示す肝癌、肝硬変患者においては、瀉血や鉄キレート剤の投与の効果が期待され、個別化医療・予防につながる可能性が考えられる。

研究成果の概要(英文)：Accumulation of iron in tissues increases the risk of cancer, but iron regulatory mechanisms in cancer tissues are largely unknown. Here, we report that p53 regulates iron metabolism through the transcriptional regulation of ISCU (iron-sulfur cluster assembly enzyme), which encodes a scaffold protein that plays a critical role in Fe-S cluster biogenesis. HCT116 p53(+/+) cells were resistant to iron accumulation, but HCT116 p53(-/-) cells accumulated intracellular iron after DNA damage. Moreover, excess dietary iron caused significant elevation of serum iron levels in p53(-/-) mice. ISCU expression was decreased in the majority of human liver cancer tissues, and its reduced expression was significantly associated with p53 mutation. Our finding revealed a novel role of the p53-ISCU pathway in the maintenance of iron homeostasis in hepatocellular carcinogenesis.

研究分野：分子腫瘍学

キーワード：p53 鉄代謝

1. 研究開始当初の背景

p53 は癌で最も高頻度に変異を起こしているがん抑制遺伝子であり、近年活発に行われている癌ゲノムシーケンスの成果によりその重要性が再認識されている。我々はこれまで数多くの新規 p53 標的遺伝子を同定し、p53 の発現する多種多様な癌抑制機能のメカニズムを明らかとしてきた (引用文献 1,2)。最近我々は、新規 p53 標的候補遺伝子として ISCU (iron-sulfur cluster assembly enzyme) を同定した。ISCU は、p53 を過剰発現させた際のマイクロアレイ解析によって抽出された。ISCU は DNA 損傷ストレスによって mRNA レベルおよびタンパク質レベルで p53 依存的に発現誘導され、さらにゲノム配列上に p53 結合配列を有することから、p53 の下流遺伝子であることが示された。

ISCU は、鉄硫黄クラスターの生合成およびそのクラスターの鉄硫黄タンパク質への移行に関わることが知られている。鉄硫黄タンパク質は、コファクターとして鉄硫黄クラスターを必要とする一群のタンパク質で、エネルギー代謝や DNA 修復など多様な細胞機能を担っている。我々は、細胞内の鉄濃度調節を行う鉄硫黄タンパク質である IRP1 (iron regulatory protein 1、別名 ACO1) に着目し、ISCU が IRP1 の活性を制御するという報告があることから (引用文献 3) p53-ISCU 経路が細胞内鉄濃度の恒常性維持に関わる可能性を考えた。

2. 研究の目的

上記に示した、p53 が ISCU を介し細胞内鉄濃度の恒常性を保ち癌化抑制に寄与するという仮説を、in vitro および in vivo において検証することを本研究の目的とする。in vitro においては、細胞株を用いて鉄恒常性維持のメカニズムを解明する。in vivo においては、マウスおよびヒト検体を用いて、個体において p53-ISCU 経路と鉄恒常性との関与を検討する。

3. 研究の方法

細胞内の鉄濃度調節を行う鉄硫黄タンパク質である IRP1 の下流経路について検討する。IRP1 は鉄の調節に関わる Tfr (TFRC, transferrin receptor) および Ferritin (FTH1, ferritin heavy chain 1) mRNA 上の特定配列 IRE (iron responsive element) に結合し、mRNA 安定化や翻訳阻害などを引き起こすことで細胞内鉄濃度を制御するが、この IRP1-mRNA 結合は、IRP1 の鉄硫黄クラスターとの結合状態に依存することが知られている (図 1 参照)。

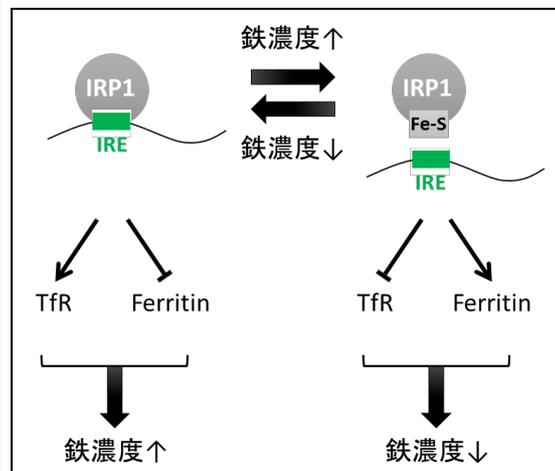


図 1 IRP1 による細胞内鉄濃度の制御機構

ISCU は鉄濃度依存的に鉄硫黄クラスターを生成し鉄硫黄タンパク質群に受け渡す機能を有するため、IRP1 の活性制御にも関与する。そこで p53-ISCU 経路が IRP1-mRNA の結合や Tfr、Ferritin の発現に影響を与える可能性を、定量的 PCR および Western blotting にて検討する。次に、その制御が IRP1-IRE 結合を介したものであるかを、RNA EMSA にて検討する。解析には、HepG2 や HCT116 等野生型 p53 を持つ細胞株を用い、siRNA で p53 および ISCU をノックダウンした際の影響を検討する。

また、p53 ノックアウトマウスにおける鉄代謝異常を検討するため、p53 ノックアウトマウスに DNA ダメージ、もしくは高鉄食を負荷した際の肝腎などの組織での ISCU の発現を検討する。またその際の組織および血液中の鉄量などを測定する。

4. 研究成果

DNA ダメージにより p53 を活性化すると ISCU の発現は顕著に上昇するが、その際に ISCU を抑制すると、鉄硫黄タンパク質 IRP1 は Ferritin mRNA 上の IRE 配列へリクルートされ、その結果、Ferritin タンパク質が減少することがわかった。さらに、p53 は鉄の取り込みに関与する Tfr の発現を負に制御していた。これらの結果より、p53-ISCU 経路は、DNA ダメージによる細胞内鉄濃度の上昇を抑制する機能を有することがわかった。

また、p53 ノックアウトマウスに対して高鉄食負荷を与えると、野生型と比べ血清鉄濃度が上昇し、より強い肝障害を認めた。また、人の肝癌検体において ISCU の発現は顕著に抑制され、また機能喪失型の遺伝子変異も認められたことから、ISCU は肝癌における癌抑制遺伝子として機能することが示された。これらより、p53-ISCU 経路は、細胞内鉄濃度の恒常性を維持し、肝発癌に対し抑制的に働いていると考えられた。(図 2 参照)

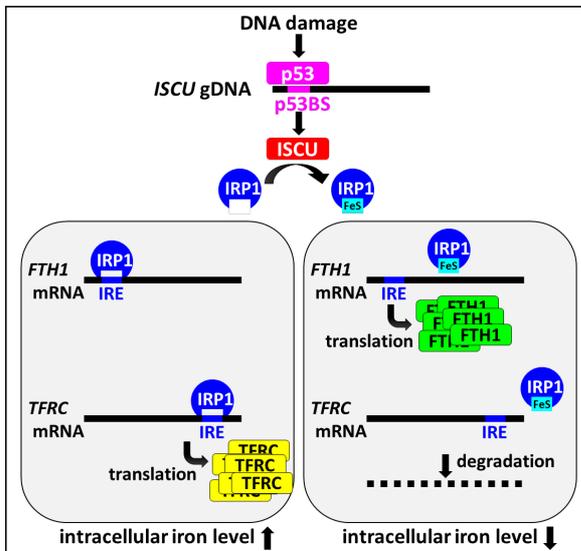


図2 p53-ISCUによる鉄濃度制御

以前より癌、特に肝臓癌においては、鉄の蓄積が癌の進展または予後に関連することが報告されている。本研究の成果により、p53が細胞内の鉄濃度を制御することが明らかとなったことは、p53の発癌制御機構の解明につながるだけでなく、臨床的な意義も大きいと思われる。p53遺伝子変異やISCU発現減少を示す肝臓、肝硬変患者においては、瀉血や鉄キレート剤の投与の効果が期待され、個別化医療・予防につながると考えられる。

引用文献

Tanikawa C, Matsuda K, Fukuda S, Nakamura Y, Arakawa H. p53RDL1 regulates p53-dependent apoptosis. *Nat Cell Biol.* Mar 2003;5(3):216-223.

Tanikawa C, Espinosa M, Suzuki A, et al. Regulation of histone modification and chromatin structure by the p53-PAD14 pathway. *Nature communications.* 2012;3:676.

Li K, Tong WH, Hughes RM, Rouault TA. Roles of the mammalian cytosolic cysteine desulfurase, ISCS, and scaffold protein, ISCU, in iron-sulfur cluster assembly. *The Journal of biological chemistry.* May 5 2006;281(18):12344-12351.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

EPSIN 3, A Novel p53 Target, Regulates the Apoptotic Pathway and Gastric Carcinogenesis. Mori J, Tanikawa C, Ohnishi N, Funauchi Y, Toyoshima O, Ueda K, Matsuda K. *Neoplasia.* 2017; 19: 185-195. 査読有 doi:10.1016/j.neo.2016.12.010.

Regulation of myo-inositol biosynthesis by p53-ISCYNA1 pathway. Koguchi T, Tanikawa C, Mori J, Kojima Y, Matsuda K. *Int J Oncol.* 2016; 48: 2415-2424. 査読有 doi:10.3892/ijo.2016.3456.

Cystatin C as a p53-inducible apoptotic mediator that regulates cathepsin L activity. Mori J, Tanikawa C, Funauchi Y, Lo PH, Nakamura Y, Matsuda K. *Cancer Sci.* 2016; 107: 298-306. 査読有 doi:10.1111/cas.12881.

Regulation of iron homeostasis by the p53-ISCU pathway. Funauchi Y, Tanikawa C, Yi Lo PH, Mori J, Daigo Y, Takano A, Miyagi Y, Okawa A, Nakamura Y, Matsuda K. *Sci Rep.* 2015; 12: 16497. 査読有 doi:10.1038/srep16497.

[学会発表](計 3 件)

谷川 千津, Yao-zhong Zhang, 井元 清哉, 山口 類, 宮野 悟, 中川 英刀, 中村 祐輔, 松田 浩一. がん抑制遺伝子 p53 による制御経路の多角的網羅的探索から見えてきた新規がん抑制メカニズム. 第 75 回日本癌学会学術総会、平成 28 年 10 月 6 日-平成 28 年 10 月 8 日、パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)

谷川千津, Zhang Yao-shong, 井元清哉, 山口類, 宮野悟, 中川英刀, 中村祐輔, 松田浩一. p53 による転写制御の組織網羅的解析. 日本癌学会学術集会、平成 27 年 10 月 8 日-平成 27 年 10 月 10 日、名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)

Chizu Tanikawa, Koji Ueda, Yusuke Nakamura, Koichi Matsuda. Regulation of RNA processing by PAD14 pathway. AACR Annual Meeting, 2015 年 4 月 18 日-2015 年 4 月 22 日、Philadelphia, USA

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等
<http://square.umin.ac.jp/matsudalab/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

谷川 千津 (TANIKAWA, Chizu)
東京大学・医科学研究所・助教
研究者番号：30422421

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()