

平成21年5月30日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2009

課題番号：19590295

研究課題名（和文） ゲノムストレスによる MDMX 癌遺伝子の制御

研究課題名（英文） Regulation of MDMX oncoprotein by genomic stresses

研究代表者

岡本 康司 (OKAMOTO KOJI)

国立がんセンター（研究所及び東病院臨床開発センター）・早期がん研究プロジェクト・室長

研究者番号：80342913

研究成果の概要：MDM2とMDMXは蛋白構造の類似した癌遺伝子産物であるが、ともにp53活性の制御機構において中心的な働きを担うと考えられている。申請者は、細胞質MDMXがMDM2と協調的に働き、p53を核外に引き止める事によりp53活性を抑制する事を発見した。さらに、神経芽細胞腫においても同様に両癌遺伝子産物が協調してp53の核外蓄積に関与している事を示し、p53不活性化の新たなメカニズムの一端を明らかにした。一方、DNA傷害等のストレスにより、神経芽細胞腫におけるp53の細胞内蓄積は消失し、p53の核内レベルでの上昇とともにその活性化が認められた。従って、MDM2とMDMXによるp53の細胞内局在の変化はゲノムストレスにより制御されると考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・医化学一般

キーワード：癌、シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

MDM2とMDMXは蛋白構造の類似した癌遺伝子産物であるが、ともにp53活性の制御機構において中心的な働きを担うと考えられている。すなわち、両者とも非ストレス状態下ではp53活性の抑制に働いているが、細胞にゲノムストレスが加わると、これらの因子はp53との結合阻害を受けると同時に不活性化され、その結果p53活性

が誘導される。多くのグループの研究で、DNA傷害等によるMDM2活性制御のメカニズムについてはかなり明らかになっていたが、MDMXの制御機構については殆ど不明であった。

申請者は、DNA傷害が、MDMXのリン酸化を引き起こす事によりMDMXを不活性化し、p53活性を誘導するメカニズムを解明し、さらにDNA傷害だけでなく細胞老化の際にも、MDMXのリン酸化が誘導され不活

性化される事を示唆する結果を得ていた。

2. 研究の目的

(1) MDMXがどのようなメカニズムによって p53 活性誘導に関わっているかどうか、明らかにする。

(2) p53 の活性制御を介してMDMXがゲノムストレスのセンサーとしての役割を果たしているかどうか、検討する。

3. 研究の方法

(1) 多くの神経芽細胞腫においては、p53 の核内における局在が妨げられ、細胞質に拘束される事により、p53 の不活性化が誘導される事が知られている。p53 の細胞質局在における MDMX、及び MDM2 の役割を明らかにするため、神経芽細胞腫由来の細胞株 (SH-SY5Y、IMR-90) においてこれら癌遺伝子をノックダウンし、p53 の細胞内局在、活性に与える役割を解析した。又、DNAトランスフェクション実験により、p53 欠損株 (H1299 等) に p53、MDMX、MDM2 を導入し、外来 p53 の細胞内局在、活性に対するこれら癌遺伝子の影響を検討した。さらに核外移行シグナル、又は核移行シグナルを付加した MDMX の導入による p53 核局在への影響も検討し、MDMX と p53 の細胞内局在の関係も調べた。

(2) 上記神経芽細胞腫において、DNA 傷害等のゲノムストレスを与え、MDMX による、p53 の細胞質拘束、不活性化に与える影響を検討した。

4. 研究成果

(1) 神経芽細胞腫において、MDMX、MDM2 がともに p53 の細胞内拘束に関与している事を示した。さらに両癌遺伝子産物は協調して p53 の核外蓄積に働いている事を明らかにし、MDMX、MDM2 の協調による p53 不活性化のメカニズムの一端を明らかにした。さらに、DNAトランスフェクション実験により、細胞質MDMXがMDM2 と協調的に働き、p53 を核外に引き止める事により p53 活性を抑制する事を確認した。

(2) DNA傷害等のストレスにより、神経芽細胞腫における p53 の細胞内蓄積は消失し、p53 の核内レベルでの上昇とともにその活性化が認められた。従って、MDM2 と

MDMXによる p53 の細胞内局在の変化はゲノムストレスにより制御されると考えられた。

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5件)

① C. Ohtsubo, D. Shiokawa, M. Kodama, C. Gaiddon, H. Nakagama, A. G. Jochemsen, Y. Taya, and K. Okamoto: Cytoplasmic Tethering is involved in Synergistic Inhibition of p53 by Mdmx and Mdm2. Cancer Science (2009) 査読有

② M. Kato (the names of 21 authors omitted) K. Okamoto, K. Tobinai, H. Nakagama, T. Nakahata, T. Yoshino, Y. Kobayashi, and S. Ogawa: Frequent inactivation of A20 in B-cell lymphomas. Nature in press (2009) 査読有

③ H. Li, K. Okamoto, M. J. Peart, and C. Prives: Lysine-independent turnover of cyclin G1 can be stabilized by B'alpha subunits of protein phosphatase 2A. Mol. Cell Biol. 29, 919-928 (2009) 査読有

④ Y. Abe, E. Oda-Sato, K. Tobiume, K. Kawaguchi, Y. Taya, K. Okamoto, M. Oren, and N. Tanaka: Hedgehog signaling overrides p53-mediated tumor suppression by activating Mdm2. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 4838-4843 (2008) 査読有

⑤ S. Benosman, I. Gross, N. Clarke, A. G. Jochemsen, K. Okamoto, J. P. Loeffler, and C. Gaiddon: Multiple neurotoxic stresses converge on MDMX proteolysis to cause neuronal apoptosis. Cell Death & Differentiation 14, 2047-2057 (2007) 査読有

[学会発表] (計6件)

① 岡本康司、中釜斉、田矢洋一、神経芽細胞腫

- | | |
|---|---|
| <p>において、Mdmx 及び Mdm2 癌遺伝子産物は協調して p53 を細胞質に拘束する事により、その活性を抑制する、第 31 回日本分子生物学会年会、第 31 回日本生化学会大会合同大会、2008 年 12 月、神戸市（神戸ポートアイランド）</p> | <p>nuclear export of p53、第 66 回日本癌学会学術総会、2007 年 10 月、横浜市（バシフィコ横浜）</p> |
| <p>② <u>岡本康司</u>、<u>中釜齊</u>、<u>田矢洋一</u> 神経芽細胞腫において、Mdmx 及び Mdm2 癌遺伝子産物は協調して p53 を細胞質に拘束する事により、その活性を抑制する、第 67 回日本癌学会学術総会、2008 年 10 月、名古屋市（名古屋国際会議場）</p> | <p>[その他]
ホームページ
http://www.ncc.go.jp/jp/nccri/divisions/p12earlylesion/p12earlylesion.html</p> |
| <p>③ 金本一洋、<u>岡本康司</u>、<u>福田博政</u>、<u>落合雅子</u>、<u>杉村 隆</u>、<u>中釜 齊</u>、BHBN 誘発マウス浸潤性膀胱がんにおけるゲノム DNA コピー数の変化、第 23 回発癌病理学会、2008 年 8 月、三重・鳥羽市（鳥羽国際ホテル）</p> | <p>6. 研究組織
(1)研究代表者
岡本 康司(OKAMOTO KOJI)
国立がんセンター（研究所及び東病院臨床開発センター）・早期がん研究プロジェクト・室長
研究者番号：80342913

(2)研究分担者
該当者なし

(3)連携研究者
該当者なし</p> |
| <p>④ 大坪千裕、田矢洋一、<u>岡本康司</u>、Mdmx 癌遺伝子は Mdm2 ユビキチンリガーゼの活性化を介して p53 を抑制する、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会、2007 年 12 月、横浜市（バシフィコ横浜）</p> | |
| <p>⑤ <u>岡本康司</u>、大坪千裕、Christian Gaidon、田矢洋一 Mdmx/Mdm2 癌遺伝子産物によるユビキチン化制御機構の破綻とその病理学的役割、第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会 ワークショップ “シヌクレイノパチーと癌の統合的戦略”、2007 年 12 月、横浜市（バシフィコ横浜）</p> | |
| <p>⑥ <u>岡本康司</u>、田矢洋一、Mdmx stimulates Mdm2-dependent ubiquitination and</p> | |