

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 年度～2010 年度

課題番号：21791823

研究課題名（和文）p53 機能喪失がん細胞特異的なアポトーシス誘導経路の解明

研究課題名（英文）Analysis of p53-independent tumor surveillance.

研究代表者

飛梅 圭 (Tobiume Kei)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：40350037

研究成果の概要（和文）：

がん監視の要である p53 依存性アポトーシス誘導能を喪失したがん細胞において、本課題で同定したアポトーシス誘導経路は、第 2 の監視機構としてがん浸潤を抑制する安全装置として機能しうることが示唆された。一方、がん浸潤を正に制御する転写因子 snail は直接的に上皮間葉転換を介して浸潤能を付与するのみならず、本課題で同定した p53 非依存的アポトーシス誘導経路を間接的に抑制することにより、本来排除されるべき‘危険な‘がん細胞をその監視機構から逸脱させていることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：

To identify the apoptosis-regulating machinery in p53-defective cancer cell would benefit the better strategy for cancer treatment. Present study revealed bim-dependent apoptotic pathway could survey to eliminate p63-downlagurated dangerous cancer cells. The harmful activation of EMT-inducing factor snail was also monitored by the concomitant cellular p63 downregulation, however, snail could provoke another pathway to evade bim-mediated apoptosis, which suggested the acquisition of higher invasiveness requires second round of evasions both from p53-dependent and p53-independent tumor surveillances.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2010 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：がん・分子細胞生物学

科研費の分科・細目：歯学・病態科学系歯学・歯科放射線学

キーワード：がん、アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

p53 依存的な経路がエフェクターとして作動するがん治療の戦略は、そもそも p53 を喪失しているがん細胞を標的とすることはできないばかりか、むしろ正常細胞が標的となってしまうことが危惧される。がんを特異標的とするためには p53 非依存的ながん監視機構を網羅することが第一である。

## 2. 研究の目的

多くのがん細胞が癌化ストレス応答の要でもある p53 が無いにもかかわらず、さまざまな細胞ストレス刺激によりアポトーシスが誘導されることに着目し、がん特異的な p53 非依存的アポトーシス誘導の分子機構を検索する。

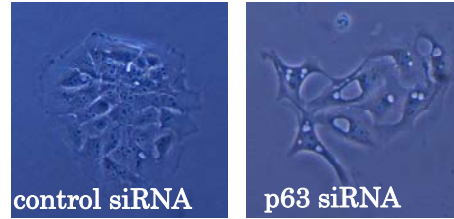
## 3. 研究の方法

p53 が変異したがん細胞株を用いて、アポトーシス誘導刺激を検索しそれに対する細胞応答を検討した。

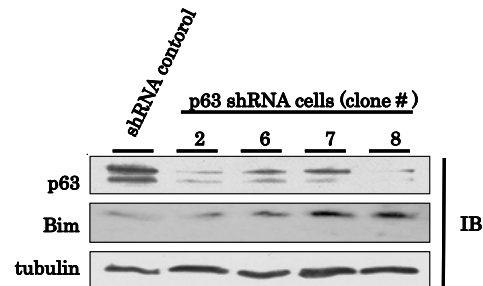
## 4. 研究成果

(1) 本課題実施前にかん細胞株において p63 ノックダウンが浸潤能を付与すること (*Cancer Res*, 2007, 67, 9207-9213) を報告したが、浸潤能獲得の一方で、p63 ノックダウンにより多くの細胞がアポトーシスにより排除されることを新たに見出した。これより p63 の発現低下は培養環境で生じているストレスに対するアポトーシス感受性を亢進させていると思われ

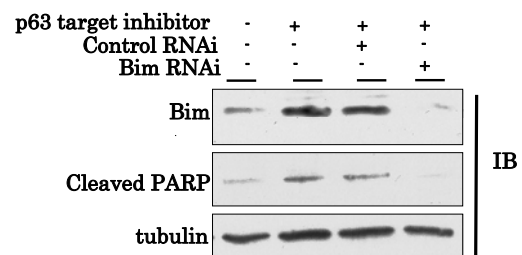
た。



(2) p63 ノックダウン細胞で内的アポトーシス誘導因子の検索をおこなった結果、アポトーシス誘導分子 Bim の発現が亢進していたことから、Bim 誘導経路ががん細胞における p53 非依存的アポトーシス経路の一端であることが示唆された。

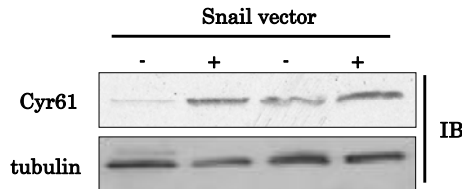


(3) さらに、ある p63 標的分子の機能阻害剤を用いると Bim の発現が亢進し、アポトーシスが誘導されたため、p63 経路が Bim 誘導経路を抑制していることが示唆された。さらに、この p63 標的分子の機能阻害剤によるアポトーシスは Bim ノックダウンにより阻害されたことから、この p63 標的分子が Bim 誘導経路を抑制する本態であることが示唆された。

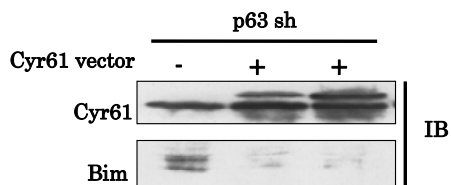


(4) がん細胞の浸潤能を効率的に亢進させる転写因子snailがp63発現を抑制すること (*Cancer Res*, 2007, 67, 9207-9213)を本課題実施前に報告しているが、新たに得たこれらの結果は、snail導入によりアポトーシスが誘導されることを想定させる。しかし、実際にはsnail導入によりアポトーシスの誘導はほとんど起きない。

(5) したがってsnail標的遺伝子がp63発現低下に伴うアポトーシスに対して、抵抗性を付与していると考えて、snail標的遺伝子の発現解析を行いサバイバルファクターの候補としてcyr61をとって同定した



(6) 樹立したcyr61導入がん細胞株はp63ノックダウンに伴うBim発現亢進が認められず、アポトーシスにも抵抗性を示した

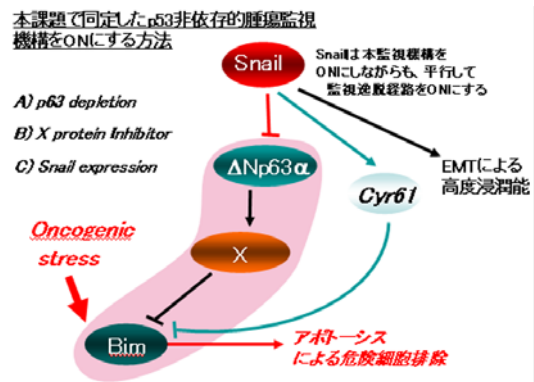


(7) cyr61は炎症に伴って発現が亢進するため、炎症誘発因子が、がん細胞の抗がん剤誘導性アポトーシス感受性に及ぼす影響を検討した

ところ、PGE2処理によりがん細胞の抗がん剤誘導性アポトーシス感受性が低下することを見出した。

(8) まとめ

がん監視の要であるp53機能を喪失したがんにおいて作動するアポトーシス誘導機構を同定した。さらに、がん細胞に浸潤能や抗がん剤耐性を獲得させる機構は間接的にこのp53非依存的腫瘍監視機構を阻害することを見出した。



## 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3件)

- (1) *Cancer Letters* 査読有, in press (2011) Shigeishi H, Higashikawa K, Hatano H, Okui G, Tanaka F, Tran TT, Rizqiawan A, Ono S, Tobiume K, Kamata N: PGE2 targets squamous cell carcinoma cell with the activated epidermal growth factor receptor family for survival against 5-fluorouracil through NR4A2 induction.

(2) *Lab Invest* 査読有, 91, 379-391  
(2011) Hatano H, Shigeishi H,  
Kudo Y, Higashikawa K, Tobiume K,  
Takata T, Kamata N: RHAMM ERK  
interaction induces  
proliferative activities of  
cementifying fibroma cells  
through a mechanism based on the  
CD44-EGFR.

(3) *Int J Cancer* 査読有, 124,  
2837-2844 (2009) Higashikawa K,  
Yoneda S, Tobiume K, Saitoh M,  
Taki M, Mitani Y, Shigeishi H,  
Ono S, Kamata N: Delta N p63 alpha  
dependent expression of Id3  
distinctively suppresses the  
invasiveness of human squamous  
cell carcinoma with epithelial  
to mesencymal transition

[学会発表] (計 5 件)

(1) 第 69 回日本癌学会・学術総会・大  
阪 (2010.9.24) Higashikawa K,  
Shigeishi H, Tobiume K, Hatano H,  
Tanaka F, Okui G, Ono S, Kamata  
N: Paracrine PGE2 targets  
epiregulin over expressing  
squamous cell carcinoma for  
resistance to anti-5-FU-induced  
apoptosis

(2) 第 69 回日本癌学会・学術総会・大  
阪 (2010.9.22) Tanaka F,  
Higashikawa K, Tobiume K, Ono S,  
Shigeishi H, Kamata N: A snail  
target gene product Cyr61  
regulates the invasiveness of

squamous cell carcinoma

(3) 88<sup>th</sup> General Session and Exhibition of  
the IADR, Spain (2010.7.16) Shigeishi  
H, Higashikawa K, Hatano H, Tobiume K,  
Kamata N: PGE2-induced expression of  
NR4A2 confers anti-apoptotic  
capability.

(4) 第 68 回日本癌学会・学術総会・横浜  
(2009.10.3) Tanaka F, Higashikawa K,  
Tobiume K, Ono S, Shigeishi H, Kamata  
N: A Snail induced secretory  
protein associated with the  
invasiveness of squamas cell  
carcinoma.

(5) 第 68 回日本癌学会・学術総会・横浜  
(200910.3) Higashikawa K, Tobiume K,  
Kamata N: Functional Analysis of  
Snail-mediated downregulation of  
deltaNp63alpha in squamous cell  
carcinoma

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飛梅 圭 (Tobiume Kei)

広島大学・大学院医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号 : 40350037

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし