

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21790299

研究課題名(和文) 新規 p53 標的遺伝子を介した p53 経路と癌遺伝子経路のクロストーク

研究課題名(英文) Novel p53 target genes involved in cross talk between oncogenic signals and p53 pathways.

研究代表者

大木 理恵子 (OHKI RIEKO)

独立行政法人国立がんセンター・研究所・研究員

研究者番号：70356252

研究成果の概要(和文)：

がん遺伝子 Akt は多くのがんにおいて異常に活性化しており、Akt 活性化はがん化を強く促進する要因の一つである。Akt は正常細胞ではがん抑制遺伝子 p53 によって、活性化が抑制されている。ところが、がんのほとんどのものではがん抑制遺伝子 p53 の機能不全が認められており、がん細胞では Akt が抑制されなくなっている。

我々は、これまで機能未知であった PHLDA3 遺伝子が、p53 によって誘導される遺伝子である事を見だし、PHLDA3 が p53 による Akt 抑制を担う重要な遺伝子である事を初めて明らかにした。

また、PHLDA3 を介した p53 と Akt のクロストークが肺がんのみならず、膵がんでも重要な働きをしている可能性が示唆された。

さらに、p53 の遺伝子多型が癌遺伝子 Mdm2 や Ras の経路と関連し、遺伝子多型によって癌抑制能が異なる事が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：

p53 and Akt are critical players regulating tumorigenesis with opposite effects: While p53 transactivates target genes to exert its function as a tumor suppressor, Akt phosphorylates its substrates and transduces downstream survival signals. In addition, p53 and Akt negatively regulate each other to balance survival and death signals within a cell. We now identify PHLDA3 as a p53 target gene, which encodes a PH domain only protein. We find that PHLDA3 competes with the PH domain of Akt for binding of membrane lipids, thereby inhibiting Akt translocation to the cellular membrane and activation. Loss of the PHLDA3 genomic locus was frequently observed in primary lung and pancreatic cancers, suggesting a role of PHLDA3 in tumor suppression.

In addition, we have found that cancer susceptibility polymorphism of p53 at codon 72 affects oncogenic signaling pathways regulated by Mdm2 and Ras.

Collectively, our results reveal a new mode of coordination between p53 and oncogenic signalling pathways.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
22 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：医化学一般

キーワード：細胞内シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

p53 は主に転写因子として機能し、DNA 損傷など様々なストレスによって安定化、活性化される。活性化された p53 は、細胞の損傷状況に応じて選択的に標的遺伝子を転写誘導することにより、細胞にアポトーシスや細胞周期停止、DNA 修復などを引き起こし、ゲノムの安定性を維持している。癌で検出される p53 変異は DNA 結合ドメインに集中しており、この事実は、いかに p53 の転写因子としての機能欠損が発癌機序に重要であるかを物語っている。転写因子としての p53 の生理学的機能を解明することは癌研究のさらなる進展につながると考え、研究を進めてきた。

2. 研究の目的

我々が新規に同定した p53 標的遺伝子である PHLDA3 遺伝子は、イノシトールリン脂質 (PIPs) との結合に働く PH ドメインのみから構成されるタンパク質をコードしている。PHLDA3 タンパク質は、PH ドメイン以外の機能ドメインを持たないため、他の PH ドメインを持つタンパク質と競合して PIPs と結合し、他の PH ドメインタンパク質によるシグナル伝達を遮断する機能を有すると考えられる。実際に、細胞内において、また in vitro 実験系において、PHLDA3 が PH ドメインを持つタンパク質で細胞の生存シグナル伝達の主役である Akt と PIPs との結合を直接阻害し、Akt の生存シグナルを遮断していることが明らかになった。

PHLDA3 発現を抑制した細胞株においては、Akt の活性が増強するとともに、p53 依存性アポトーシスが減弱する事が示され、p53 の下流で PHLDA3 が Akt の抑制を介して、アポトーシス誘導に働いている事が示された。また、興味深い事に、PHLDA3 遺伝子座の高頻度な欠損が肺の内分泌腫瘍である LCNEC (large cell neuroendocrine carcinoma) と carcinoid の検体において認められた。さらに、癌組織において正常組織と比較して PHLDA3 の優位な発現低下と Akt 活性の上昇が認められており、これらの癌において PHLDA3 が癌抑制遺伝子として機能している可能性が考えられた。

このように、癌抑制遺伝子 p53 経路と癌遺伝子 Akt 経路の新たなクロストークを明らかにしてきたが、今後、癌遺伝子経路と p53 経路の新規クロストークをさらに解明したいと考えている。これまでに網羅的な microarray を用いた発現解析による p53 依存的に転写誘導される遺伝子の同定、及び、ChIP-chip assay を用いたゲノムワイドな p53 結合部位の同定を行い、複数の新規 p53

標的遺伝子候補を同定しており、これらの詳細な解析を行っている。

3. 研究の方法

これまでに同定された遺伝子が p53 依存的に転写誘導される遺伝子である事、ChIP-chip assay により promoter に p53 の結合が認められる事など、これらが p53 の直接的な標的遺伝子であることを詳細に証明する。また、同定された遺伝子が、特にがん遺伝子が制御するシグナル経路とどのようなクロストークをするのか、詳細に解析する。

4. 研究成果

がん遺伝子 Akt は多くのがんにおいて異常に活性化しており、Akt 活性化はがん化を強く促進する要因の一つである。Akt は正常細胞ではがん抑制遺伝子 p53 によって、活性化が抑制されている。ところが、がんのほとんどのものではがん抑制遺伝子 p53 の機能不全が認められており、がん細胞では Akt が抑制されなくなっている。

我々は、これまで機能未知であった PHLDA3 遺伝子が、p53 によって誘導される遺伝子である事を見だし、PHLDA3 が p53 による Akt 抑制を担う重要な遺伝子である事を初めて明らかにした。

また、PHLDA3 を介した p53 と Akt のクロストークが肺がんのみならず、膵がんでも重要な働きをしている可能性が示唆された。

さらに、p53 の遺伝子多型が癌遺伝子 Mdm2 や Ras の経路と関連し、遺伝子多型によって癌抑制能が異なる事が明らかになった。

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 1 件)

1. Chikako Ozeki, Tatsuhiro Shibata, Takashi Kohno, Yuichiro Sawai, Koji Okamoto, Jun Yokota, Fumio Tashiro, Seiichi Tanuma, Ryuichi Sakai, Tatsuya Kawase, Issay Kitabayashi, Yoichi Taya and Rieko Ohki[#]. ([#]corresponding author) Cancer susceptibility polymorphism of p53 at codon 72 affects phosphorylation and degradation of p53 protein. **Journal of Biological Chemistry**, in press.
2. 川瀬竜也、大木理恵子 PHLDA3 は新規 Akt 抑制因子であり、癌化を抑制する因子である。細胞工学 Special Review, vol. 29, pp. 599-605, 2010
3. 大木理恵子、川瀬竜也 PHLDA3 は新規 Akt 抑制因子であり、癌化を抑制する因子である。生体の科学 61 巻 6 号, pp. 560-567, 2010

〔学会発表〕(計 7件)

1. 第13回神経芽腫研究会 特別講演、2009年8月
大木理恵子「PH domain-only protein PHLDA3はAktの新規抑制因子である」
2. 第2回シンフォニーシンポジウム、2009年10月
大木理恵子「新規癌関連遺伝子の同定による癌化メカニズムの解明」
3. 第68回日本癌学会学術総会、口頭発表、2009年10月
大木理恵子、川瀬竜也、柴田龍弘、堤修一、太田力、市川仁、稲澤 譲治、油谷浩幸、田代文夫、田矢洋一「PHドメインのみからなるPHLDA3は、p53の新規標的遺伝子でありAktの新規抑制因子である」
4. 第32回日本分子生物学会年会、ワークショップ発表、2009年12月
大木理恵子 「p53によるAKTシグナルの制御-PH domain-only protein PHLDA3の役割」
5. AACR-JCA 8th Joint Conference, 2010年2月
Rieko Ohki, Yosuke Ohsawa, Ryuichi Sakai
「A comprehensive screening of shRNAs that regulate p53 activity」
6. 早稲田大学大学院・先進理工学研究科、細胞生物学特論セミナー、2010年6月
大木理恵子「新規癌関連遺伝子の同定による癌化メカニズムの解明」
7. 金沢大学がん研究所、オンコロジーセミナー、2010年7月
大木理恵子「新規癌関連遺伝子の同定による癌化メカニズムの解明」

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 2件)

名称：医薬組成物、および、腫瘍の治療用医薬剤
発明者：大木理恵子、川瀬竜也、柴田龍弘、田矢洋一、油谷浩幸、稲澤譲治、田代文夫
権利者：ヒューマンサイエンス振興財団、東京理科大学、東京医科歯科大学
種類：特願
番号：PCT/JP2010/051428
出願年月日：平成22年2月2日
国内外の別：外

名称：shRNA発現ライブラリーの製造方法
発明者：大木理恵子
権利者：ヒューマンサイエンス振興財団
種類：特願
番号：2010-153309
出願年月日：平成22年7月5日
国内外の別：内

○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〕
該当せず

6. 研究組織
(1)研究代表者
大木理恵子 (OHKI RIEKO)
国立がんセンター(研究所及び東病院臨床開発センター)
研究者番号：70356252

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：