

Title	In vivo イメージング技術を用いた核小体ストレス応答の制御機構と発癌における役割の解明
Author(s)	河原, 康一
Citation	癌と人. 41 p.43-p.44
Issue Date	2014-05
oaire:version	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/36352
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

In vivo イメージング技術を用いた核小体ストレス応答の 制御機構と発癌における役割の解明

河原 康一*

p53 遺伝子は、約半数のヒト腫瘍で異常を認めるがん抑制遺伝子の代表格であり、様々なストレスを感知し、細胞増殖停止、細胞死、細胞老化等の防御反応を惹起することで、発がんの抑制に働く主要な“ゲートキーパー”である。p53 は放射線、化学物質などによるゲノム障害ストレスや、発癌遺伝子の活性化による発癌ストレスによって活性化される他、最近核小体を起点として活性化される核小体ストレス応答に関わることが明らかになってきました。核小体ストレス応答は、ActinomycinD 等の薬剤によるリボソーム構築障害や栄養飢餓、接触抑制によって起動し、リボソームタンパク質が核小体から局在変化し、これが核小体外の領域にあるMDM2 と結合し、p53 を分解するMDM2 の機能抑制することで、p53 の安定化による細胞増殖抑制を起こします。

私たちはこれまでにリボソームタンパク質を核小体に留めることで核小体ストレス応答を抑制する新規分子 PICT1 を見出し、PICT1 の発現低下や欠損による核小体ストレス応答は、p53 を増加させ、腫瘍細胞の増殖やマウスの腫瘍化進展を著しく抑制すること、PICT1 の発現が低下したヒト腫瘍患者の予後は良好になることを見出しました。これらの結果から、核小体ストレス応答は発がんの抑制に極めて重要であり、この応答は魅力的ながんの治療標的と考えられました。

このことから、核小体ストレス応答がいつ、どこで、どの程度、起こっているのかを明らかにすることは、このストレス応答が制御する生理現象やその破綻によって生じる癌の発生機序を理解するうえで鍵となる極めて重要な課題と

考えられます。また核小体ストレス応答は p53 を増加させ腫瘍の進展を抑制することから、核小体ストレスを誘導する薬剤は新規作用機序をもつ抗腫瘍薬となると予想されます。そこで私たちは今回の研究では、核小体ストレス応答を簡便に、かつ特異的に検出できる可視化レポーターシステムの構築を目指しました。

核小体ストレス応答が起こるとリボソームタンパク質とMDM2 が結合するため、この結合を蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) によって計測できるシステムの構築を試みました。FRET の計測には蛍光タンパク質であるCFPとYFPが一定の方向性で近接することが重要であるため、まず異なる部位でYFPやCFPを融合させたタンパク質を発現できるベクターを遺伝子工学的な技術を用いて構築し検討しました。その結果、ActinomycinDによる核小体ストレスを誘導したCOS細胞において、リボソームタンパク質のN末端にYFPを、MDM2のC末端にCFPを融合したプローブが、最も強いFRETシグナルを生じました。次に、COS細胞に加えて、ヒト子宮頸がん細胞株Hela細胞や、ヒト肺腺癌細胞株であるH1299細胞にFRETプローブを導入しシグナルを計測したところ、これらの細胞株すべてにおいて、核小体ストレス時に強いFRETシグナルを認めました。さらに、5FU、MPA等の他の核小体ストレスを誘導する薬剤においても、同様の強いFRETシグナルを検出しました。

以上の検討結果から、今回設計、作製した蛍光プローブについて基礎検討を行い、本プローブが核小体ストレス応答を可視化計測できること、核小体ストレスに対して特異的であること、

様々な培養細胞に適応可能であることを明らかにしました。

現在、この FRET プローブを発現する遺伝子改変マウスを作製し、生体内で核小体ストレス応答を検出することで、生体内でのこのストレス応答の作動機構の解明を進めています。また FRET プローブを発現するマウスに化学物質で発がんを誘導させ、発がんの形成、浸潤、転移等、いずれの過程で核小体ストレス応答が活性化するかを明らかにすることで、核小体ストレス応答が発がんを防御する役割を明示したいと考えております。核小体ストレス応答は p53 経路を活性化することでがん細胞の増殖や腫瘍化進展を抑制することから、本 FRET プローブによ

るレポーターシステムを用いて核小体ストレス応答を誘導する抗がん剤を探索したいと思えます。このように、今後も引き続き核小体ストレス応答を基軸とした発がんの基礎的研究や創薬への応用研究に、より一層精力的に取り組んでいきたいと考えています。

最後に、本研究を遂行するにあたり、大阪癌研究会より一般研究助成金を賜りましたことを深く感謝いたします。貴財団の益々のご発展を祈念いたします。

*鹿兒島大学大学院医歯学総合研究科腫瘍学講座
平成 24 年度一般学術研究助成金交付者