

DRAM 強制発現による p53 依存性アポトーシス経路の再活性化に関する検討

[1] 組織

代表者：吉岡 孝志
(山形大学医学部)
対応者：角道 祐一
(東北大学加齢医学研究所)

分担者：高橋 昌宏
(山形大学医学部)
石岡 千加史
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費30万円

[2] 研究経過

最近の研究において、オートファジー関連タンパク質とされる DRAM (damage-regulated autophagy modulator) の機能喪失が多くのがんで報告されている (Eur J Cancer. 2011 Jan;47(1):44-50)。オートファジーならびにアポトーシスなどの細胞死研究は、近年ますます注目されており、その詳細なメカニズムの解明がさらに明らかとなってきている。われわれはこれまでの研究により、DRAM が p53 依存性にアポトーシス誘導能の増強に関与する可能性を見だしており、この結果は p53 機能を保持するあるいは DRAM 機能を喪失しているがんに対する新たな治療につながるものと期待される。

本研究は、DRAM 強制発現が TP53 ステータスの違いによりアポトーシス誘導に違いを生じ得るか、培養細胞を用いたアッセイ系で解析することを主目的とするものである。これまでに野生型 p53 よりも強いアポトーシス誘導能を持つ変異型 p53、すなわち super p53 が存在することが報告されている (EMBO J 18:4424-4437, 1999、Cancer Res 65:2108-2114, 2005)。われわれは super p53 の一つである S121F 変異体と野生型 p53 と機能喪失型変異体 R175H を用いたマイクロアレイ解析を行うことによって、強力なアポトーシスを誘導するための重要分子の一つである可能性として p53 標的遺伝子である DRAM に着目した (図1)。p53 欠失細胞株

であるヒト骨肉種由来の Saos-2 細胞株を用いて野生型 p53 および R175H を発現誘導できる cell line を樹立し、各々の p53 タンパク質を発現誘導した条件下で DRAM を強制発現することで、アポトーシス誘導能がどのように変化するかを FACS を用いた subG1 assay によって調べた。

その結果、野生型 p53 では DRAM との共発現によりアポトーシス誘導能が有意に増強したのに対し、R175H ではアポトーシス誘導能の増強は認められなかった (図2)。

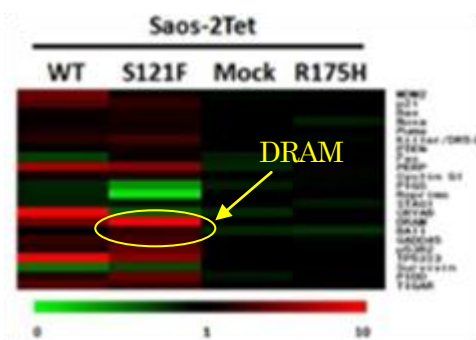


図1

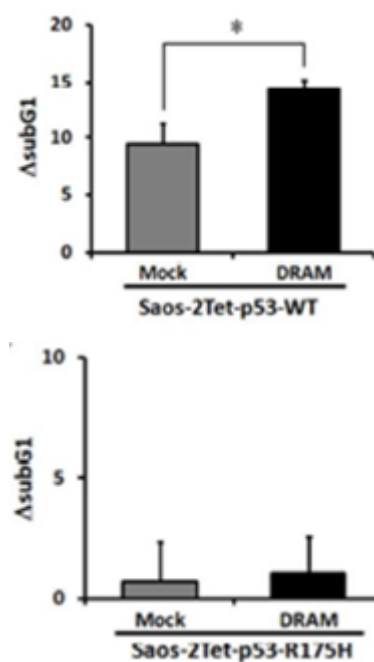


図2

さらに、*TP53* 欠失型ヒト悪性膠芽腫由来細胞株 SF126 においても同様にアポトーシス誘導能を評価した。その結果、Saos-2 と同様に野生型 p53 ではアポトーシス誘導能は増強されたが、R175H では増強されなかった。

以下、研究活動状況の概要を記す。これらの結果は、東北大学で得た基礎データを元に山形大学で解析を加え、さらに東北大学にフィードバックし、基礎データの蓄積とさらなる検討、打ち合わせを行いながら研究を進めた。ここまでの成果は論文化することとし、両大学間での打ち合わせを繰り返し、論文作成をおこなった。

[3] 成果

(3-1) 研究成果

まず第1に、S121F 変異体の有する強いアポトーシス誘導能のメカニズムとして、DRAM の発現亢進が寄与している可能性が示唆された。

第2に、DRAM の強制発現により野生型 p53 のアポトーシス誘導能が増強することが明らかとなった。一方で、アポトーシス誘導能を欠いた R175H 変異体と DRAM を同時に共発現してもアポトーシス誘導能は増強しないことがわかった。すなわち、DRAM のアポトーシス誘導能増強効果は p53 のステータスの違いによって異なることが示された。

第3にこの結果は、p53 を欠失した他の細胞株である SF126 細胞でも再現性が確認された。

第4に、super p53 を用いた p53 依存性アポトーシス誘導機構を解析することにより、がん治療の新たな標的分子を同定できる可能性が示唆された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究で明らかになった p53 ステータスによるアポトーシス誘導能の増強効果の違いは、p53 ステータスの違いに基づいた個別化医療への可能性を期待させるものである。また、DRAM ステータスの違いによるアポトーシス誘導能またはオートファジー誘導能の違いも増感剤や分解阻害剤などの開発といった新たながん治療につながる可能性も考えられ、今後の発展が大いに期待される。

[4] 成果資料

本研究成果は、*Cancer Medicine* 2013 年 2 月号に掲載された。

Takahashi M, Kakudo Y, Takahashi S, Sakamoto Y, Kato S and Ishioka C: Overexpression of DRAM enhances p53-dependent apoptosis
Volume 2, Issue 1(pages 1–10) 2013, *Cancer Medicine*