

細胞老化の分子機構解明及び老化を標的とした
癌分子標的療法の開発

Molecular mechanisms of cell senescence and its application
into gynecological cancers.



和氣 徳夫 (Norio Wake)

九州大学・大学院医学研究院生殖病態生理学・教授

研究の概要

正常細胞は有限寿命である。細胞老化プログラムが存在するためである。細胞老化プログラムの制御にはテロメア長、pRb 及び p53 を介するシグナルが関与する。がん化の初期過程において細胞はこれらのシグナルによる制御を破綻させ、不死化能を獲得する。しかし、一方で破綻した複数のシグナルのうち1つを再構築するとがん細胞老化が誘導される。本研究ではがん細胞に老化シグナルを再構築する手段を開発し、がん細胞老化誘導を目的としたゲノム創薬を行う。

研究分野／科研費の分科・細目／キーワード

産婦人科学、基盤研究 (S)、がん細胞老化、p53 安定化シグナル、細胞老化誘導遺伝子、ゲノム創薬

1. 研究開始当初の背景・動機

①正常細胞における老化誘導の分子機構には不明な点が多い。我々は子宮体癌及び絨毛癌細胞を用いて様々な正常細胞由来単一染色体移入を行い、それぞれ1及び7番染色体上に老化誘導活性を保有する癌抑制遺伝子が存在することを明らかにした。細胞老化は多経路から構成されるシグナルにより制御されている。癌細胞ではこれら全てのシグナルが破綻しているが、これらの1つのシグナルを構築できればがん細胞老化を導くことが可能である。このため1及び7番染色体上の老化誘導遺伝子に大きな関心をいだいた。

②変異型 K-Ras により伝達されるシグナルは正常細胞に老化を誘導する。しかし p14ARF 発現を欠く NIH3T3 細胞では形質転換が誘導される。本形質転換には K-Ras の下流でエストロゲンリセプター (ER) が重要な役割を担う。このため ER 機能を阻害するとがん細胞老化誘導が観察される。本細胞老化においては p53 蛋白の活性化が認められる。これらの結果から ER による p14ARF/MDM2/p53 シグナル伝達の負の制御

の存在が示唆される。P14ARF は多くのヒト癌においてその発現を消失しているため p14ARF/MDM2/p53 シグナルの再構築は老化を標的とした癌分子標的療法の開発に連動すると考えた。

2. 研究の目的

(1) ヒト1及び7番染色体からの老化誘導遺伝子単離、(2) 細胞老化における Ras/ER シグナル伝達の生物学的意義、(3) 細胞老化誘導能を有する p21 機能ドメインの同定、(4) HDAC 阻害剤による細胞老化誘導の分子機構の解明。

3. 研究の方法

(1) positional Cloning 法を用いた細胞老化誘導遺伝子の単離、(2) 活性型 K-Ras 変異体存在下においてドミナント・ネガティブ ER 変異体発現によるがん細胞老化誘導とシグナル伝達の変化、(3) p21 欠失変異体の作成及びその発現に伴う ROS の産生の変化、(4) HDAC 阻害剤を用いたがん細胞老化誘導の解析、抗腫瘍効果及びその分子機構の同定

4. 研究の主な成果

(1) 子宮体癌細胞に老化を誘導する癌抑制遺伝子が 1q42 領域に存在することを明らかにし同領域から EGLN1 遺伝子を単離した。EGLN1 は HIF1 α を水酸化し VHL による HIF1 α 蛋白分解を亢進する。EGLN1 強制発現子宮体癌細胞では正常ヒト 1 番染色体単一移入時と同様に顕著ながん細胞老化が誘導された。HIF1 α 機能阻害は EGLN1 非存在下でがん細胞老化を導いたため EGLN1 は HIF1 α を負に制御することによりがん細胞老化を導くと示唆された。(2) 活性型 Ras 蛋白 (K12V) は ER 機能を亢進し、ets/fos を介して MDM2 蛋白発現を増大し、p53 蛋白の不安定化を導くことにより癌化に関与することを明らかにした。一方様々な手段により ER 機能を阻害すると MDM2 蛋白の減少、p53 蛋白の安定化を介して下流の p21 発現亢進によりトランスフォーム細胞に老化が誘導された。MDM2siRNA 或いは Mithramycin により MDM2 蛋白発現を抑制しても同様の現象が観察された。このため Ras/ER/MDM2/p53/p21 シグナルソームを再構築しがん細胞老化を誘導するゲノム創薬の有効性が示唆された。(3) p21CDK 結合領域に老化誘導活性が存在し下流で ROS 産生を介して老化を誘導することを明らかにした。(4) HDAC 阻害剤バルプロ酸は p53 非依存性に p21 蛋白発現を導きがん細胞に老化を誘導した。(5) 絨毛癌抑制遺伝子として NECC1 を単離した。NECC1 蛋白はホメオドメインのみからなるユニークな蛋白であるがトロホブラスト幹細胞から巨細胞への分化を負に調節する。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

(1) がん細胞による薬剤耐性獲得が癌の難治性の原因となっている。このため本研究においてがん細胞老化誘導を目的としたゲノム創薬を行い臨床研究に結びつけることは癌寛解率の向上に大きく貢献できる。(2) 細胞老化の分子機構については不明な点が多い。本研究では p53 安定化シグナル、EGLN1/HIF1 α 、NECC1 等による老化メカニズムを初めて明らかにした。(3) p53 安定化シグナルを再構築する手段を複数開発しその有効性を確認している。前臨床試験としての価値は高い。(4) 子宮体癌細胞に老化を誘導する遺伝子として EGLN1 を、絨毛癌細胞に老化を誘導する遺伝子として NECC1 を世界で初めて単離した。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Kato H, Inoue T, Asanoma K, Nishimura C, Matsuda T, Wake N. Induction on human endometrial cancer cell senescence through modulation of HIF-1 α activity by EGLN1. *Int J Cancer*. 118:1144-53 (2006)
2. Horiuchi S, Kato K, Suga S, Takahashi A, Ueoka Y, Arima T, Nishida JI, Hachisuga T, Kawarabayashi T, Wake N. Expression of progesterone receptor B is associated with G0/G1 arrest of the cell cycle and growth inhibition in NIH3T3 cells. *Exp Cell Res*. May 1;305(2):233-243. (2005)
3. Ninomiya Y, Kato K, Takahashi A, Ueoka K, Kamikihara T, Arima T, Matsuda T, Kato H, Nishida J, Wake N. K-Ras and H-Ras activation promote distinct consequences on endometrial cell survival. *Cancer Res* 64, 2759-276 (2004)
4. Asanoma K, Matsuda T, Kondo H, Kato K, Kishino T, Niikawa N, Wake N, Kato H: NECC1, a candidate choriocarcinoma suppressor gene which encodes homeodomain consensus motif. : *Genomics* 81, 15-25, (2003)
5. Kato K, Horiuchi S, Takahashi T, Ueoka Y, Arima T, Matsuda T, Kato H, Nishida J, Nakabeppu Y, Wake N: Contribution of estrogen receptor α (ER α) to oncogenic K-Ras-mediated NIH3T3 cell transformation and its implication for escape from senescence by modulating the p53 pathway. : *J. Biol. Chem.*, 277, 13, 11217-11224 (2002)

ホームページ等

<http://hyoka.ofc.kyushu-u.ac.jp/search/details/K002253/index.html>