

自然免疫制御機構におけるガン抑制遺伝子 p53 の機能解明とそのガン治療への応用
～転写因子 MEF と病原微生物認識受容体 PRR の発現制御に関して～

分子機能薬学専攻 遺伝子機能応用学分野 田浦 学

細胞周期停止や DNA 修復, アポトーシス促進などに関わる分子の発現を制御するガン抑制遺伝子 p53 は, ヒト癌の 50% 以上に変異が認められることから, ガン研究の最重要分子として注目されてきた. しかし, 近年, p53 結合部位がヒトゲノム上に 542 もあることが判り, これまで報告された約 150 のガン関連 p53 標的遺伝子以外にも多くの p53 標的遺伝子が存在する可能性が想定されたことから, p53 に関する先端的研究が, 老化・加齢, 代謝, 免疫系など, 多くの生命現象における p53 の新たな機能解明へと変遷してきている. そこで, 本研究では, 今日まで未踏であった, 自然免疫制御機構における p53 の機能的役割の全貌解明を究極の目的として, 第 1 に, 様々な免疫制御分子 (抗菌ペプチド, サイトカイン) の発現を制御する重要な転写因子 MEF (Myeloid ELF-1-like factor) について, 第 2 に, 病原微生物の感染を認識する受容体 (Pattern Recognition Receptor; PRR) について, p53 による発現制御機構の解明を行った. さらに, 第 3 に, p53 による PRR 発現制御機構の知見をベースにした, p53 の変異の有無を考慮する必要が無い, ガンの新たな治療手段の開発研究を行った.

1) MEF は病原微生物を分解する抗菌ペプチドや免疫系の活性化を制御するサイトカインの発現調節を担う一方, 造血幹細胞の自己増殖や NK 細胞などの自然免疫担当細胞の分化を担う, 極めて広範囲に自然免疫系を制御する転写因子である. そこで本研究では, MEF の発現に対する p53 の影響を検討した. その結果, p53 欠損ヒト細胞において, MEF の発現が有意に増加することが示された. 一方, p53 過剰発現と内因性 p53 活性化により低下していた. そこで, p53 による MEF 遺伝子発現制御への影響を MEF プロモーター解析および ChIP assay を用いて詳細に検討した. その結果, p53 は, MEF の転写活性化因子として新たに同定した転写因子 E2F1 を抑制することにより, MEF の発現を間接的に抑制することを明らかにした.

2) p53 がウイルス感染時に強く誘導され, 最終的にウイルス感染細胞にアポトーシスを誘導するという点に鑑み, 本研究では, ウイルスなどの病原微生物の感染認識を担い, 感染細胞のアポトーシス誘導に大きく寄与する PRR の発現および機能制御に対する p53 の影響を検討した. はじめに, p53 欠損による PRR 下流サイトカイン発現への影響を, 各種 PRR リガンド処理により網羅的に解析した. その結果, p53 欠損ヒト細胞においては, ウイルス構成成分である 2 本鎖 RNA を認識する受容体 Toll-like

receptor 3 (TLR3) の発現量および下流シグナルが顕著に抑制されることが示された。そこで、p53 による TLR3 遺伝子発現制御機構の解明を行った。その結果、p53 は TLR3 プロモーター上の特異的 p53 応答配列に直接結合し、転写活性化を介して TLR3 遺伝子発現を誘導すること、さらに p53 は、TLR3 発現制御を介して、抗ウイルス免疫を担うインターフェロン- β (IFN- β) の発現を正に制御することを明らかにした。また、p53 ノックアウトマウスの肝臓・腸管組織においても、TLR3 遺伝子の発現は低下していたことから、本現象はヒトおよびマウスの異なる種においても保存されていることが示唆された。

3) TLR3 リガンドである poly (I:C) は、ガン細胞においてアポトーシスを強く誘導することから、本研究では p53 による TLR3 発現制御機構を応用した新規ガン治療法の開発を目的に、TLR3 の発現を p53 依存的に誘導しうる既存の抗ガン剤と poly (I:C) を併用し、poly (I:C) のガン細胞死誘導作用を増強するか否かについて検討した。その結果、DNA 傷害性の抗ガン剤である 5-FU は p53 依存的に、一方、ガン免疫賦活剤である IFN- α は p53 非依存的に TLR3 の発現を誘導し、poly (I:C) のガン細胞死誘導作用を増強することを明らかにした。さらに、5-FU と IFN- α の併用は、より強力な TLR3 発現誘導に伴う、poly (I:C) のガン細胞死誘導作用を増強することを示した。この 5-FU および IFN- α 、poly (I:C) の 3 剤併用は、大腸ガン細胞株 (HCT116) 以外に、p53 野生型および変異型ガン細胞株である肺ガン細胞株 (A549, Calu-3)、肝臓ガン細胞株 (HepG2) においても強力に細胞死を誘導することができ、正常細胞株 (HEK293, mouse embryonic fibroblast) における細胞死誘導は極めて少なかった。したがって、TLR3 発現上昇作用を基盤としたこの 3 剤併用療法 (5-FU, IFN- α , poly (I:C)) は、ガン化学療法に対する耐性原因の 1 つとされる p53 変異の有無に関わらず、高い抗ガン活性とガン細胞選択性を有することが示された。

以上、本研究は、p53 が、MEF の発現を抑制し、一方では、TLR3 の発現を誘導する働きを担うという新規の自然免疫制御機構が存在することを初めて明らかにした。また、上述の TLR3 に関する知見を基盤として、ガン細胞における TLR3 を 5-FU および IFN- α を用いて p53 依存的・非依存的に上昇させる方法を見だし、poly (I:C) との 3 剤併用による新規ガン治療法の可能性を提唱した。したがって、本論文は、p53 を標的にした自然免疫制御剤の開発およびガン治療法の開発に貢献できる基礎的知見を提供するものである。