

(平成 23 年研究報告書)

23-B-9 がん抑制遺伝子 p 5 3 を標的とした癌診断、癌治療薬の開発

独立行政法人国立がん研究センター研究所・難治がん研究分野 大木理恵子

研究の分類・属性

基礎系

研究の概要

癌の発生率は年齢が上がるに従い高くなる。日本では、今後急速に少子高齢化社会が進み、2020 年の日本では、人口の約 30%が 65 歳以上の高齢者となる。今後、癌患者の増加は必至であり、副作用が少なく治療効果の高い癌治療薬の開発と効果的な診断法は喫緊の課題である。

本研究では、癌抑制遺伝子 p53 の遺伝子型に応じた癌治療を可能とすることを目指す。従来の抗癌剤は正常細胞にも影響を与えてしまうため、重篤な副作用を引き起こす。現在、副作用の少ない癌治療薬として脚光を浴びているのが「分子標的抗癌剤」である。分子標的抗癌剤は、癌細胞に関わる分子のみを標的とするため、正常細胞には影響を与えず、副作用は少ない。分子標的治療の標的分子として、現在、最も注目されている分子が癌抑制遺伝子 p53 である。人体には本来、癌抑制遺伝子 p53 が備わっており、細胞の癌化を防いでいる。ヒトの癌においては、p53 遺伝子の変異等により、p53 の正常な機能が失われていることがほとんどである。p53 の機能を癌細胞に回復させる薬剤が開発されれば、非常に効果の高い新たな分子標的抗癌剤の開発に結びつく。

研究経費

5,000 千円

研究班の組織

大木理恵子

研究員

研究代表者

研究の目的と到達目標及び実績要点

全期間

(目的と到達目標) :

【背景】

癌の発生率は年齢が上がるに従い高くなる。日本では、今後急速に少子高齢化社会が進み、2020 年の日本では、人口の約 30%が 65 歳以上の高齢者となる。今後、癌患者の増加は必至であり、副作用が少なく治療効果の高い癌治療薬の開発と効果的な診断法は喫緊の課題である。

【目的】

本研究では、癌抑制遺伝子 p53 の遺伝子型に応じた癌治療を可能とすることを旨とする。

従来の抗癌剤は正常細胞にも影響を与えてしまうため、重篤な副作用を引き起こす。現在、副作用の少ない癌治療薬として脚光を浴びているのが「分子標的抗癌剤」である。分子標的抗癌剤は、癌細胞に関わる分子のみを標的とするため、正常細胞には影響を与えず、副作用は少ない。分子標的治療の標的分子として、現在、最も注目されている分子が癌抑制遺伝子 p53 である。人体には本来、癌抑制遺伝子 p53 が備わっており、細胞の癌化を防いでいる。ヒトの癌においては、p53 遺伝子の変異等により、p53 の正常な機能が失われていることがほとんどである(図 1)。p53 の機能を癌細胞に回復させる薬剤が開発されれば、非常に効果の高い新たな分子標的抗癌剤の開発に結びつく。

本研究期間内においては、大きく分けて、以下の3点の課題に取り組む(図 2)。

I. 癌抑制遺伝子 p53 を標的とした新規抗癌剤の創製

以下に示す方法で、ヒトの癌で最も高頻度に変異が認められる癌抑制遺伝子 p53 の活性を増強する新規抗癌剤の開発を行う。

- 1) 独自の shRNA ライブラリーを用い、野生型及び変異型 p53 の活性を増強させる shRNA を同定する。
- 2) 10 万種の天然物化合物からなるライブラリーをスクリーニングし、野生型及び変異型 p53 の活性を増強させる化合物を同定。
- 3) 野生型及び変異型 p53 構造を in silico で解析し、p53 活性を増強させる化合物をデザインする。
- 4) p53 の標的遺伝子であり癌遺伝子 Akt の抑制因子である PHLDA3 をベースにした抗癌剤を開発する。

II. 癌抑制遺伝子 p53 変異を特異的に検出する抗体の作出

野生型に加え、代表的な変異体の抗体を作製し、患者の p53 遺伝子型の勘弁で正確な診断法を確立する。

III. 抗癌剤候補の動物モデルを用いた効能の検討

抗癌剤の効能を in vivo でアッセイするマウス実験系の確立と、得られた抗癌剤候補の効能を検討する。

本研究は、図2に示すように p53 遺伝子型に応じた効果的な治療を可能にする。新しい癌治療・診断法の開発へとつながるものである。

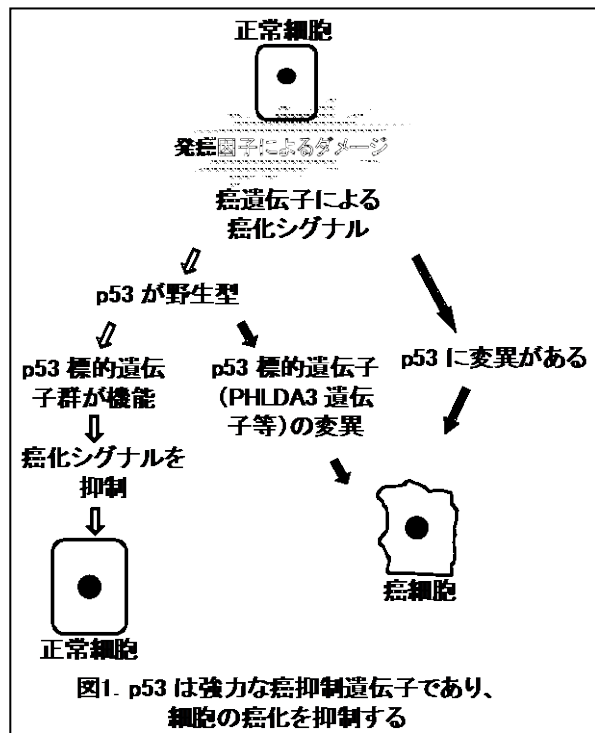
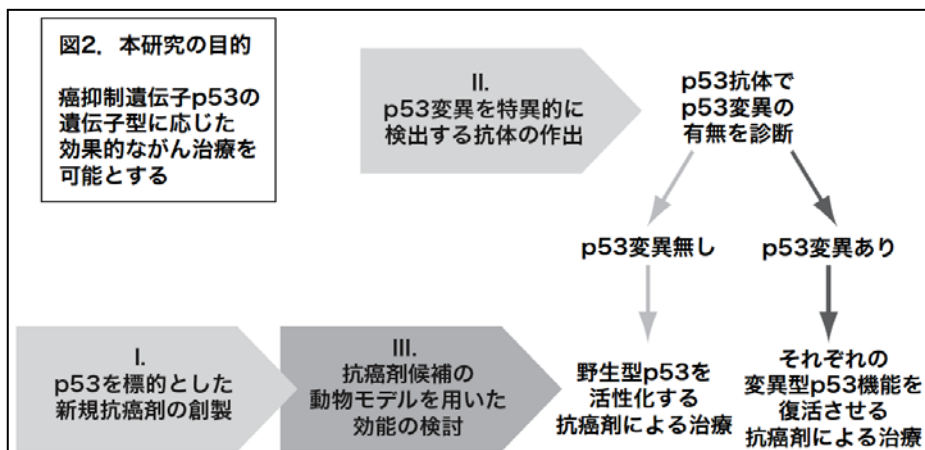


図1. p53 は強力な癌抑制遺伝子であり、細胞の癌化を抑制する



第1年次

(到達目標)

1. 野生型及び変異型 p53 活性化する shRNA を同定する。
2. 野生型及び変異型 p53 活性化する天然物を同定する。
3. PHLDA3 タンパク質の in silico 構造解析を行う。
4. PHLDA3 タンパク質自体が抗癌剤となりうるか、培養細胞系を用いた実験を行い、検討する。
5. 野生型及び変異型 p53 に対する抗体を作製する。

(年次評価時点の実績要点)

第1年次評価時点

1. 野生型及び変異型 p53 活性化する shRNA を同定した。
2. 野生型及び変異型 p53 活性化する天然物を同定した。
3. PHLDA3 タンパク質の in silico 構造解析を行った。
4. PHLDA3 タンパク質自体が抗癌剤となりうるか、培養細胞系を用いた実験を行っている。
5. 野生型及び変異型 p53 に対する抗体を作製している。

研究成果と考察

第1年次評価時点

1. 野生型及び変異型 p53 活性化する shRNA を同定する。
2. 野生型及び変異型 p53 活性化する天然物を同定する。

これまでに野生型及び変異型 p53 を活性化する shRNA 及び天然物の同定に成功している。より強い活性を持つものをスクリーニングするとともに、既に同定済みのものに関して解析を進める。

3. PHLDA3 タンパク質の in silico 構造解析を行う。
4. PHLDA3 タンパク質自体が抗癌剤となりうるか、培養細胞系を用いた実験を行い、検討する。

これまでに PHLDA3 精製タンパク質を取得している。今後、培養細胞を用いて抗腫瘍効果が認められるか検討する。

5. 野生型及び変異型 p53 に対する抗体を作製する。

これまでに野生型及び変異型 p53 の精製タンパク質を取得している。また抗原となるペプチドも合成済みである。現在、特異性の高い抗体のスクリーニングを行っている。

倫理面への配慮

本研究課題は、国立がん研究センターの倫理審査取扱規程を遵守し、行う所存である。

本研究に関連する、本研究期間中の主な発表論文等

(雑誌論文)

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**, Vol. 286, pp. 18251-18260, 2011.

(学会発表)

1. China-Japan Symposium on Cancer Research、2011年5月

Rieko Ohki, PH domain-only protein PHLDA3 is a p53-regulated repressor of Akt

2. 第70回日本癌学会学術総会、シンポジウム発表、2011年10月

大木理恵子 「PH domain-only protein PHLDA3 is a p53-regulated repressor of Akt」

3. 日仏がんワークショップ、発表、2011年11月

大木理恵子 「PH domain-only protein PHLDA3; a p53-regulated repressor of Akt and a novel tumor suppressor of endocrine tumors」