

「ゲノムの構造と機能」  
平成11年度採択研究代表者

田矢 洋一

( 国立がんセンター研究所 室長 )

## 「p53によるゲノム防御機構」

### 1 . 研究実施の概要

p53はヒトの癌の約50%で失活の見られる最も重要な癌抑制遺伝子であるが、細胞内でのこの蛋白質の機能やそれを制御するメカニズムはよくわからない点が多いので、これを明らかにするために研究を進めた。そして、今年度は以下のようなことを明らかにした。

細胞のDNAがダメージを受けた際、p53が安定化して活性化されるためには以前に見つけていたSer15に加えてSer20のリン酸化も重要であることを見出し、そのSer20をリン酸化するのはDNAチェックポイント制御に關与するChk1とChk2であることを明らかにした。

また、p53はある場合にはG1停止を誘導するけれども別の場合にはアポトーシスを誘導する。この選択のメカニズムは重要な問題でありながら不明であったが、我々は、p53の新規なリン酸化部位Ser46がアポトーシス誘導を制御するらしいことを見いだした。この部位は細胞のDNAが深く傷ついてアポトーシスが誘導される時期に一致してリン酸化が誘導される。しかも、この部位を他のアミノ酸に置換した時のみ、p53のアポトーシス誘導能が大きく変化する。このメカニズムは今後、癌細胞にのみアポトーシスを起こさせて死滅させる方法の開発などに応用できるかも知れない。

### 2 . 研究実施内容

#### (1) 研究目的

p53はヒトの癌全体の約50%で失活の見られる最も重要な癌抑制蛋白質であるので、これの細胞内での生理機能を明らかにすることは新しい癌治療法の開発にもつながると期待される。

p53は、細胞がDNAにダメージなどを受けると増加して活性化状態になるが、活性化されたp53は、G1停止あるいはアポトーシスを引き起こす。その際のp53の活性の制御がp53上のリン酸化部位の違いでなされると推定するので、作製したp53の多数のリン酸化部位特異的抗体を用いて、どの部位のリン酸化がp53のどのような活性の制御を行うのかを明らかにする。昨年度までに、すでに、Ser15のリ

ン酸化がp53の活性化に重要であることを明らかにしてきたが、他の部位についてもこれらの抗体を用いて意義を明らかにする。

(2) 研究方法

- 1) GST-p53を基質として細胞の抽出物でリン酸化した後、p53のリン酸化されたSer20を特異的に認識する抗体でもってウェスタンブロッティングにかけるという方法を用いて、Ser20をリン酸化する酵素の活性を追って同定する。
- 2) 細胞がアポトーシスを起こすのと一致してリン酸化されるp53の部位を、作製したp53の多数のリン酸化部位特異的抗体を用いて同定する。

(3) 研究結果

- 1) Ser20をリン酸化するのは、DNAチェックポイント制御に關与するChk1とChk2であることを明らかにした。
- 2) p53の新規なリン酸化部位Ser46がアポトーシス誘導を制御するらしいことを見いだした。この部位は細胞のDNAが深く傷ついてアポトーシスが誘導される時期に一致してリン酸化が誘導される。しかも、この部位を他のアミノ酸に置換した時にのみ、p53のアポトーシス誘導能が大きく変化する

(4) 結論

Li-Fraumeni症候群のうちでp53に変異のないものの中に、Chk2の変異が最近、米国のグループによって見つけられた。おそらくこの変異でChk2がp53のSer20をリン酸化できないためにp53の活性化が起きず、p53が変化したLi-Fraumeni症候群と同じような症状を示すのであろう。

p53がいかにしてアポトーシスを誘導するかということは大きな謎であったが、p53上のある特定の部位のリン酸化がそれを制御するらしいことを発見したことは大きな意義がある。p53の生理機能の重要な部分を解明したことになるし、今後Ser46キナーゼを同定できれば、癌細胞にのみアポトーシスを誘導させて死滅させる方法の開発などにも応用できることが期待できるからである。

3 . 主な研究成果の発表 (論文発表)

Shieh, S-Y., Ahn, J., Tamai, K., Taya, Y. and Prives, C.: The human homologues of checkpoint kinases Chk1 and Cds1 (Chk2) phosphorylate p53 at multiple DNA damage inducible sites. *Genes & Dev.*, 14, 289-300 (2000)

Pandita, T., Lieberman, H., Lim, D.-S., Dhar, S., Zheng, W., Taya, Y. and Kastan, M. B.: Ionizing radiation activates the ATM kinase throughout the cell cycle. *Oncogene*, 19, 1386- (2000)

Kapoor, M., Hamm, R., Yan, W., Taya, Y. and Lozano, G.: Cooperative phosphorylation at multiple sites is required to activate p53 in response to UV radiation. *Oncogene*, 19, 358-364 (2000)

Xiao, g., Chicas, A., Olivier, M., Taya, Y., Tyagi, S., Kramer, F. and Bargonetti, J.: A DNA Damage Signal Is Required for p53 to Activate gadd45. *Cancer Res.*, 60, 1711-1719 (2000)