

がん抑制遺伝子 PDCD4 の発見と今後の展開(2013年5月13日公開)

佐賀大学 講師 松橋幸子

大阪大学名誉教授 畑田耕一

1. はじめに

今、およそ5人に1人が癌で命を失うといわれている。医学が進歩して他の病気による死亡率が低下していることもあるが、環境の悪化により癌の発生率が上がってきたことが主な原因と考えられる。我々の体は100兆個におよぶ細胞により構成されている(文献1)。これらの細胞はそれぞれ役目の違う組織と呼ばれる細胞の集合体を形成し、これらの組織が集合して互いに協調し合って個体を作り上げている。その様子は人間社会と似ていることから細胞社会といわれる。この細胞社会では個々の細胞は自由に増殖することは許されず細胞社会の調節機構によって常にきびしく制御されている。しかし、時にはこの調節機構に抵抗して勝手に増殖を始める細胞が現れる。これががん細胞である。がん細胞は正常細胞内にがん遺伝子が発生したり、細胞内に存在するがん抑制遺伝子が異常をきたして失われた場合に発生する。がん遺伝子はがん遺伝子を持ったビールス、いわゆるがんビールスが感染して細胞内に持ち込まれたり、正常細胞内のがん原遺伝子(がん遺伝子に変化し得る正常遺伝子)が突然変異をおこして発生する。しかし、通常は、一つの細胞内でこのような条件が複数重ならないとがん細胞にはならない。車にたとえると、がん遺伝子はがん細胞増殖のアクセルであり、がん抑制遺伝子はブレーキである。がん遺伝子が発生し、がん抑制遺伝子を失った細胞はアクセルが入りっぱなしでブレーキがきかなくなった車と同じで暴走してがん細胞が増殖するわけである。

2. がん発生のメカニズム

正常細胞を発癌物質に晒した後に発癌プロモーターといわれるTPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)(図1参照)やある種の増殖因子(例えばEGF; Epidermal Growth Factor)により繰り返し増殖刺激を続けるとがん細胞が発生する。EGFは、本来、細胞の表面に存在するEGF受容体に結合して細胞の成長と増殖の調節に重要な役割を果たすタンパクであるが、場合によってはがんの発生に寄与することがあるわけである。発がんプロモーターの機能を持つ因子はEGFのほかにも数多くあって、炎症発生時にも産生されることがある。

しかし、逆に増殖刺激を続けた後に発癌物質に晒してもがん細胞は発生しない。従って、がん細胞は、まず、正常細胞に遺伝子異常が起き(がん発生の開始段階 initiation step と呼ばれる)、遺伝子異常を起こした細胞がTPAやEGF等により繰り返し増殖刺激を受けている間に周囲からの制御とは無関係に

増殖する能力を獲得し（がん発生の促進段階 **promotion step** とよばれる）、自由に増殖する細胞に変化して発生することが分かる。そして、この無制限な増殖能を獲得した細胞にさらに遺伝子異常が重なって悪性腫瘍へと変化していくのである（悪性化段階 **progression step** とよばれる）。この遺伝子異常が重なって悪性化していく過程は大腸癌でよく研究されている。大腸癌では発癌過程の種々の段階の癌を分離することができ、それらの遺伝子解析からがん遺伝子の発生やがん抑制遺伝子の消失等の遺伝子異常が積み重なって悪性化していく過程が明らかにされている（文献1）。遺伝子異常は個々の癌について共通点もあるが、同じがんは一つもないといわれるように多種多様である。実際に、私たちの体内では常に発癌物質、内部被ばくや複製異常等により遺伝子に突然変異が起きており、ヒトの体では毎日10億個以上の細胞で遺伝子変異が起きているといわれている。しかし、細胞にはこれらの突然変異を修復する機能が備わっており、突然変異が起きても通常は何事も起こらない。ところが、突然変異をうけた細胞がたまたま炎症などにより繰り返し増殖刺激をうけているうちに周囲の調節に抵抗して増え続ける増殖細胞へ、さらには悪性腫瘍へと変化していくのである。

クロトンオイルの加水分解によって得られるホルボルエステル群に発癌作用があることはよく知られているが、その中から図1に示された構造の TPA とよばれる発癌プロモーターが分離されて、発癌メカニズムの研究に大変役立ってきた。現在では TPA は遺伝子に突然変異を起こすのではなく、発がんを促進してがんを発生させる発がんプロモーターであることが明らかになっている。

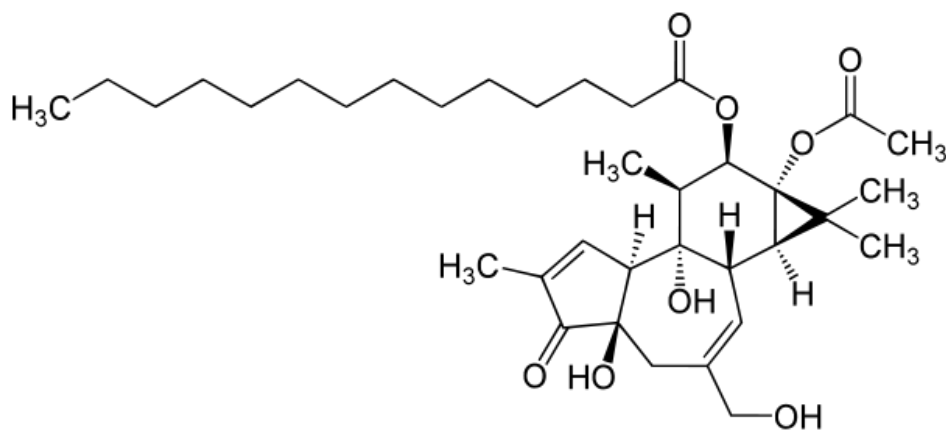


図1 発がんプロモーターTPAの構造

アメリカ国立癌研究所（National Cancer Institute: NCI）のホルバーン博士らはマウスの皮膚の細胞を用いて、TPAに反応して高頻度のがんを発生する細胞と、逆に、TPAの発がん誘導に抵抗するがん発生率の低い細胞を分離して、両者の違いを調べることにより、発がんメカニズムを明らかにした（文献2）。細胞内でいろいろな機能を発揮しているタンパク質は、DNA上の遺伝子情報に基づいて作られるメッセンジャーリボ核酸（messenger ribonucleic acid: mRNA）の遺伝情報がリボソームにより読

み取られて合成される。この過程が遺伝子発現と呼ばれ、RNAポリメラーゼの働きでDNAの一方の鎖を鋳型にしてRNAが作られる過程を転写という。遺伝子発現とその調節のメカニズムについては後でもう一度詳しく説明する。コルバーンらの研究によって、正常細胞が周囲からの調節作用を振り切って増殖する細胞に変化するには、遺伝子発現を調節する作用を持つタンパク質であるAP-1 (activated protein-1) やNF- κ B (nuclear factor-kappaB) とよばれる転写因子の活性が上昇することが重要な意味を持つことが明らかになった。これらの転写因子の活性が上昇すると、細胞の増殖やがん細胞の浸潤・転移を促進する機能を持つ遺伝子の発現が活発になるとともに、細胞にとっては悪玉である過酸化分子を分解する抗酸化システムに関与する遺伝子の発現が攪乱されることになる(図2)。その結果、周囲の調節に抵抗して増え続ける増殖細胞はさらに増殖が活発になり不安定化する。そして抗酸化機能が失われた細胞内では蓄積した過酸化分子が遺伝子に作用して変異を誘導するので(図3参照) 遺伝子異常が積み重なって悪性腫瘍へと変化していくのである。

3. がん抑制遺伝子 PDCD4 とその作用機作

このように細胞のがん化メカニズムが明らかになってくると、このメカニズムを利用してがん化の抑制・がん治療ができないかということになり、AP-1の阻害剤の研究等が行われるようになった。松橋らが発見しPDCD4 (programmed cell death 4)と名付けた遺伝子がのちにコルバーンらのグループとの共同研究により、がん抑制遺伝子であることが明らかになり(文献3)、PDCD4の研究は飛躍的に発展してAP-1の活性化を抑制することが明らかになった(文献4)。図2に示すようにPDCD4はAP-1の活性化を抑制するだけでなく、タンパク質の合成を阻害する。タンパク質合成はがん細胞の増殖には必須であり、それが阻害されると細胞の増殖は抑制される。また、そのメカニズムはまだ十分には解明

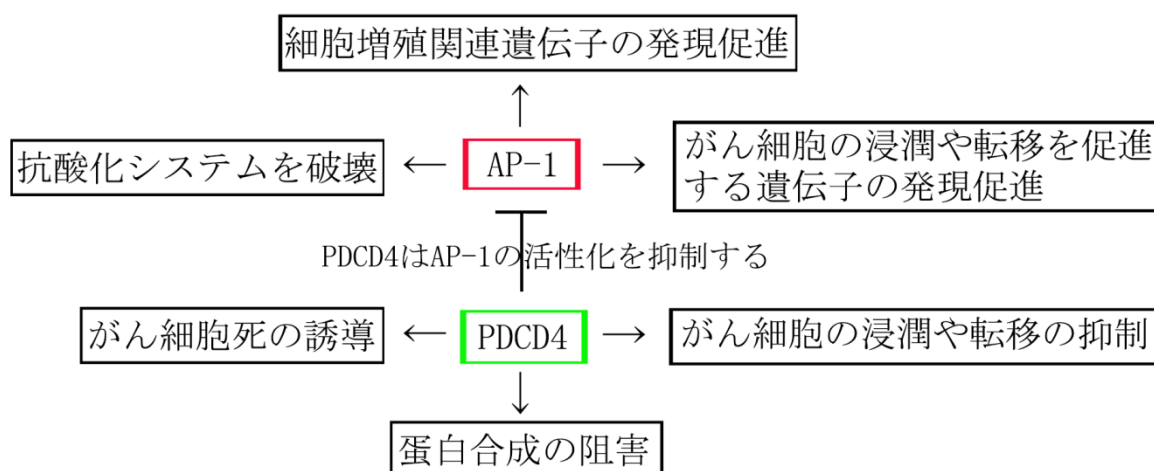


図2. PDCD4がん抑制遺伝子は多様な機能により発がんを抑制する。

されていないものの、がん細胞の浸潤・転移をも抑制することが分かってきた。さらに、PDCD4 遺伝子をがん細胞内で過剰に発現させると細胞死（アポトーシス）が誘導される。これらの結果から考えると PDCD4 の高レベルの発現はがん細胞にとって有害であることは明らかである。実際に、前述のマウスの皮膚細胞を用いた実験で PDCD4 を高発現している細胞は発がんの頻度が低く、低発現の細胞はがんになり易いことが証明されている（文献3）。また、PDCD4 遺伝子は正常組織ではどこでもよく発現しているが、がん組織では一般的にその発現レベルが低下している。従って、もし細胞の PDCD4 遺伝子の発現レベルを上昇させる方法がみつかれば発がんの予防やがん治療にも役立つはずである。次に、その方法について考えてみたいと思う。

通常、がん抑制遺伝子は突然変異や遺伝子欠損等の遺伝子異常によりその機能に異常をきたして失活するのであるが、PDCD4 遺伝子にはそのような遺伝子異常は今のところ報告されていない。では PDCD4 はどのようにしてその効力を失うのであろうか。それを知るためには、まず遺伝子発現とその調節のメカニズムを知る必要がある。遺伝情報は、DNA (Deoxyribonucleic acid: デオキシリボ核酸) という A(アデニンヌクレオチド)、G(グアニンヌクレオチド)、C(シトシンヌクレオチド)、T(チミンヌクレオチド) の4文字で表される4種のヌクレオチド（図3参照）が直線状に繋がった巨大分子の上

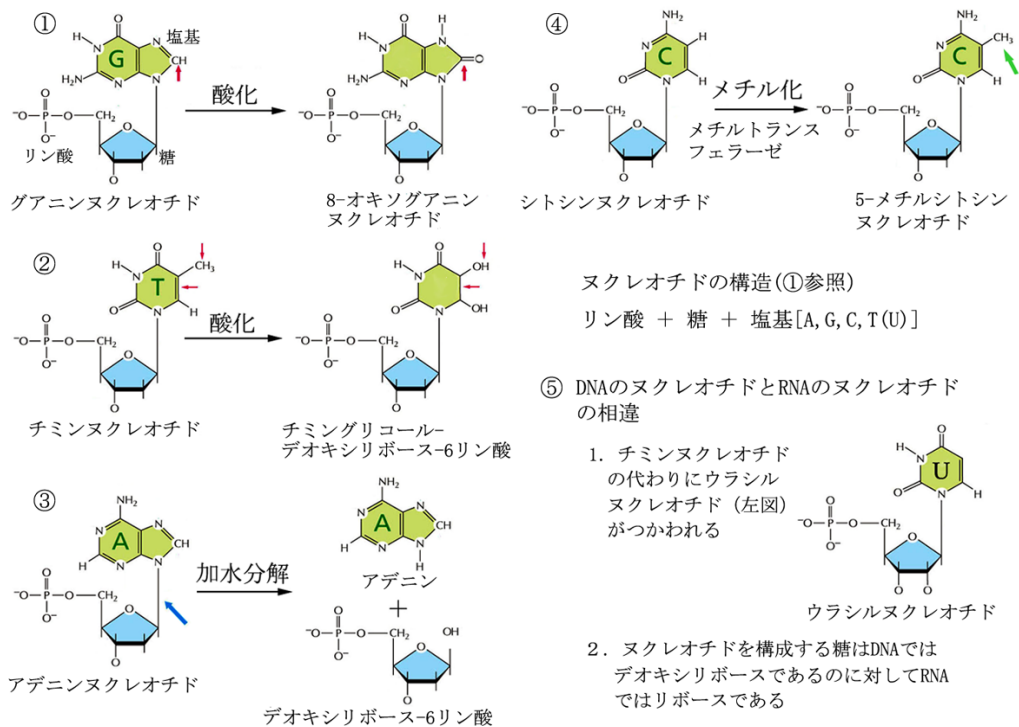


図3. 核酸を構成するヌクレオチドの構造とその損傷。核酸を構成しているヌクレオチドは活性化酸素や化学物質と反応して様々な損傷を受ける。ここには代表的な三つの例(①、②、③)をあげた。通常これらの損傷は修復されるが、されなければDNAにヌクレオチドの置換や欠損がおきて突然変異を起こす。④の反応はメチルトランスフェラーゼという酵素による生理的な反応でメチルシトシンは遺伝的にはシトシンと同等で問題はないが本来メチル化されるべきでないところがメチル化されると問題がおきる。

に A、G、C、T の 4 種のヌクレオチドの配列により暗号化された情報として書き込まれている。DNA 上には多くの遺伝情報が書き込まれており、そのそれぞれの部分を遺伝子という。遺伝子発現とは、先にも述べたように、DNA がもつ遺伝情報が読み取られて、その情報に特異的なタンパク質が合成されることである。DNA 上には特定のタンパク質に相当する遺伝子情報の始まりを示す開始点と終わりを示す終了点の暗号があり、その間のヌクレオチド 3 個の配列が一つのアミノ酸の暗号となっている。たとえば、AAA はリシンというアミノ酸、GAG はグルタミン酸というアミノ酸の暗号となっている。そして、遺伝子開始点の暗号は ATG(メチオニンの暗号)であり、終了点の暗号は TAA、TGA、または TAG であるが、終了点の三つの暗号に相当するアミノ酸は存在しない。図 4 に示すように、遺伝子発現の過程では、先ず DNA の遺伝情報が DNA と同様に核酸ではあるが物質的には全く違う mRNA に転写される。

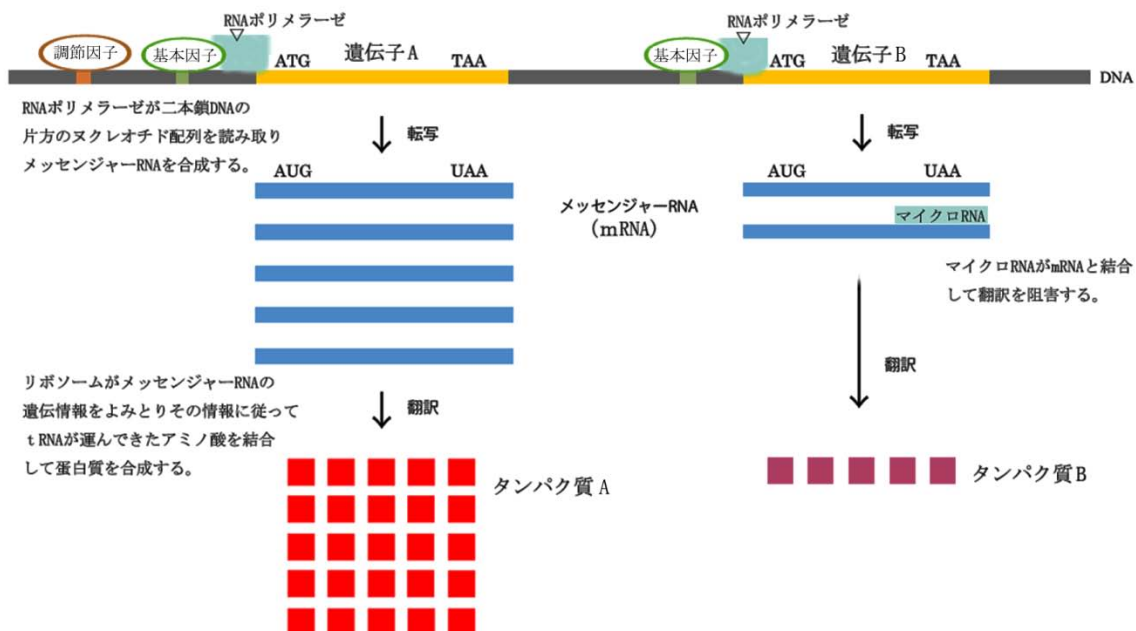


図4. 遺伝子発現の機序とその調節。遺伝子の転写開始点に転写基本因子(緑色、基本因子)とRNAポリメラーゼが結合するとRNA合成がはじまる。そしてその”上流”(左側)に転写調節因子(茶色、調節因子)が結合してその合成を調節する。

RNA は DNA と同じように A、G、C、U(ウラシル)の 4 種のヌクレオチド (図 3-⑤)に示すように DNA のヌクレオチドとはそれぞれ構造が少し違うが遺伝子の暗号としては DNA のそれと同等である。U は DNA の T に対応する) が直線状に繋がった巨大分子であり、RNA が合成される時は二本鎖 DNA の中の 1 本の DNA を鋳型にして DNA のヌクレオチドの配列がそのまま RNA に写し取られる(この時 DNA の T は RNA では U となる)。そして、このようにして遺伝子 DNA の遺伝情報を受け取った mRNA の遺伝情報を暗号翻訳の機能を持ったリボソームという RNA と蛋白質の巨大複合体が読み取り、トラン

スファーRNA (transfer RNA, tRNA) が運んできたアミノ酸を繋げて特定の遺伝子に特異的なタンパク質が合成される。このタンパク質の合成過程は翻訳とよばれる。遺伝子発現は転写の過程でも翻訳の過程でも外部因子により調節されている。それぞれの遺伝子では、その外側の DNA 部分、特に、転写開始点の外側の部分 (この部分を川の流れにたとえて上流部位という、図 4 に示された遺伝子の左側の DNA 部位) が遺伝子発現の調節機能を持っており、そこにいろいろな促進機能を持つ転写因子や抑制機能を持つ転写因子が会合することで転写速度が調節されている。転写因子とそれが結合する DNA 部位の構造はカギとカギ穴の関係にあり、その部分の DNA の構造に変化が起きるとその転写因子は結合できなくなり、その遺伝子の発現のレベルが変わってくる。DNA は、前に述べたように、A、G、C、T の 4 種のヌクレオチドが直鎖状に連なった構造をしているが、特定の遺伝子に関わる転写調節部位すなわち転写因子が結合する DNA 部位にある CG 配列 (C と G の連なったところ、CG アイランドと呼ばれる) の C (シトシン) にメチル基 (CH₃ 基) が結合 (メチル化) して (図 3-④) DNA の構造に変化が起こると一般にその遺伝子は転写されにくくなり、mRNA の量が減少する。がん細胞ではがん抑制遺伝子を含む多くの遺伝子の発現が CG アイランドのメチル化により抑制されていることが知られている。PDCD4 遺伝子の発現についても同様な事例がいくつか報告されている (文献 4)。

最近、細胞にはマイクロ RNA と呼ばれる従来のものとは機能の違う一群の小さな RNA が存在し、それぞれ特異的に mRNA に会合して翻訳を抑制することが分かってきた (図 4 参照)。PDCD4 の場合には、マイクロ RNA 21 が翻訳を阻害して PDCD4 タンパク質の合成を抑制する。多くのがん細胞ではこのマイクロ RNA 21 の量が増加しており、そのため PDCD4 のタンパク合成 (翻訳) が抑えられてがん細胞内の PDCD4 タンパク質が減少する一因となっている (文献 4)。そこで、マイクロ RNA 21 を無力化すれば PDCD4 タンパク合成が増加して細胞内の PDCD4 タンパク量がふえるはずである。現在、その方法も開発されて実験には使用されている。将来、この方法はがん治療の一つの手段に使えるかもしれない。

遺伝子発現の量、すなわち、細胞内の遺伝子が作り出すタンパク質の量はそのタンパク質の分解機構によっても制御されている。図 5 に示すように PDCD4 遺伝子が合成するタンパク質はその構造の特定の部分にリン酸基が結合 (リン酸化) すると細胞質中に存在するユビキチン/プロテアソーム系によって分解される。この PDCD4 タンパク質を分解に導くリン酸化の過程は増殖因子やその他種々の外的因子により影響をうけることが明らかになってきた (文献 4)。実際に、増殖因子の EGF や発がんプロモーターの TPA は PDCD4 タンパク質のリン酸化を促進して細胞内の PDCD4 タンパク質量を減少させることができる (図 5)。そして多くのがん細胞ではこのタンパク分解システムが活発に働いていて

PDCD4 タンパク質濃度を低下させている。このように細胞内の PDCD4 タンパク質の濃度は前に述べた遺伝子 DNA の構造変化やマイクロ RNA21 の過剰発現がなくても、増殖因子などの環境因子によって低下するのである。言い換えれば、PDCD4 の発現低下というがん発生リスクは、細胞自体に変化が起きなくても環境によって生じ得るわけである。しかし、このことはまた逆に、薬やサプリメント、ダイエット食品などによって PDCD4 タンパク質の発現レベルを上昇させることも可能であることを示しているとも言える。

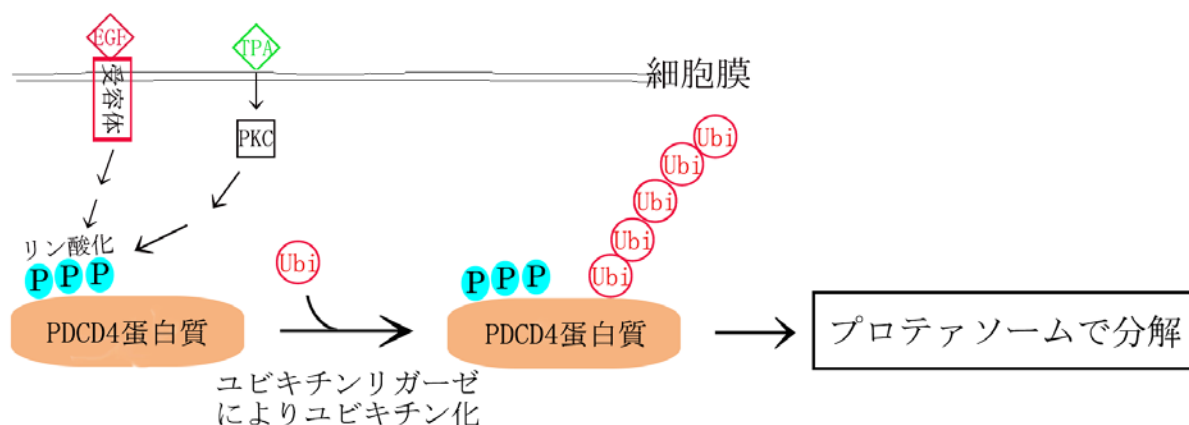


図 5. PDCD4 タンパク質分解のメカニズム。PDCD4 タンパク質は特定のアミノ酸単位がリン酸化されるとユビキチン化されてプロテアソーム触媒により分解される。このリン酸化は EGF などの増殖因子や TPA により誘導される。Ubi, ユビキチン (アミノ酸単位 76 個からなるタンパク質)、PKC, プロテインキナーゼ C(タンパク質リン酸化酵素 C)。

以上のことから考えて、細胞内の PDCD4 タンパク質の濃度を外的因子によって上昇させる方法がみつければ、がん予防やがん治療に役立つと考えられる。その一つの方法として PDCD4 タンパク質の分解を特異的に阻害してその濃度を上昇させる物質の検索がはじまっており、天然物や合成化合物の中に、我々の結果も含めてそのような作用を持ついくつかの物質が見出されている (文献 5)。色野菜や、カレー粉、赤ワインその他いろいろなダイエット食品ががん予防に有効であるとか、大豆ダイエットが大腸がんの予防によいなどと言われて、これらの食べ物のなかに含まれている有効成分の分子とその機能解析が行われているが、それらのなかにも PDCD4 タンパク質の分解を抑制して安定化させる物質があるかもしれない。そしてこれら有効成分の機能が明らかになればそれをもとに新しい抗がん剤やより効率的なサプリメント、ダイエット食品が開発できるはずである。そのような報告がなされる日の遠くないことを期待して筆を置く。

参考文献

1. 細胞の分子生物学、第5版、中村桂子、松原謙一 監訳 (Molecular Biology of the Cells, Fifth Edition, by Alberts B. et al.) Newton Press Inc. 2010.
2. AP-1/jun function is differentially induced in promotion-sensitive and resistant JB6 cells. Bernstein LR, Colburn NH. (1989) Science 244, 566-569.
3. Differentially expressed protein Pdc4 inhibits tumor promoter-induced neoplastic transformation. Cmarik JL, Min H, Hegamyer G, Zhan S, Kulesz-Martin M, Yoshinaga H, Matsushashi S, Colburn NH. (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999), 96, 14037-14042.
4. Programmed Cell Death 4. by Matsushashi S, Ozaki I. in Encyclopedia of Cancer, 2nd edition, ed. Manfred Schwab. pp.2432-2435. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, New York 2008.
5. Actinopolysporins A-C and tubercidin as a Pdc4 stabilizer from the halophilic actinomycete *Actinopolyspora erythraea* YIM 90600. Zhao L-H, Huang S-X, Tang S-K et al. (2012) J. Nat. Prod. (2012).74, 1990-1995.