



| | |
|---------------------|---|
| Title | 正常上皮細胞とp53変異細胞間に生じる細胞競合を制御する分子メカニズムの研究 [論文内容及び審査の要旨] |
| Author(s) | 渡邊, 裕貴 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(理学) |
| Dissertation Number | 甲第14911号 |
| Issue Date | 2022-03-24 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/85281 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | WATANABE_Hirotaka_abstract.pdf, 論文内容の要旨 |



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 渡邊 裕貴

学 位 論 文 題 名

正常上皮細胞と p53 変異細胞間に生じる細胞競合を制御する分子メカニズムの研究

癌抑制タンパク質である p53 は、DNA 損傷や活性酸素種の過剰生産等の様々なストレスに応答して、細胞周期の停止、アポトーシスや DNA 修復などの抗ストレス応答に関与する下流の調節因子の転写を活性化させることが知られている。p53 の機能を失うと、損傷した細胞もしくは DNA が不完全に修復された細胞が生存することや増殖亢進を誘引し、最終的には腫瘍が形成される。ヒトの癌の半数で p53 は変異を起こしていることが知られ、蓄積する p53 遺伝子異常のほとんどは DNA 結合ドメイン部分であり、特に 175、273 番目のアルギニンがヒスチジンに置換された R175H と R273H のミスセンス変異である。一般的に、癌細胞は正常な細胞の遺伝子に 2 個から 10 個程度の変異が徐々に蓄積していくことで発生することが知られており、このような多段階発癌の過程において、p53 は一般的に癌の中期から後期にかけて変異が頻発することが知られている。しかし、癌化の初期に p53 の変異が蓄積しないのか、このメカニズムに関しては不明である。一方で、近年、癌化の初期段階において、正常細胞が変異細胞を排除するという細胞競合による防御機構の存在が多数報告されている。このような背景のもと申請者は、上皮層に p53 変異(ヒトの癌で好発する p53R175H または p53R273H)が生じた細胞の運命を明らかにし、多段階発癌の遺伝子変異の規則性と細胞競合との関連の解明を目指した。

本論文は、全 4 章より構成されている。1 章では緒言として、p53 の癌抑制タンパク質としての機能、TP53 を含む癌化に関連する遺伝子や多段階発癌モデルに関する背景、および細胞競合研究に関する背景について述べている。本研究の成果については 2 章と 3 章で、包括的な結論を 4 章で述べる。

2 章では、発癌過程の初期において p53 変異を有する細胞が生じた際の p53 変異細胞の運命について述べる。発癌過程において、p53 変異は中期から後期において起こるという報告はあるが、初期に起こるという報告はない。本研究では、テトラサイクリン添加により p53 変異を誘導する MDCK 細胞株を樹立し、正常細胞と混合培養し細胞層を形成した後に、テトラサイクリンを添加することでモザイク状に変異細胞を誘導可能な細胞培養システムを用いて、p53 変異細胞の運命を調べた。その結果、正常細胞に囲まれた p53 変異細胞は

細胞死を起こし、基底膜側へ排除されるという表現型を明らかにした (図 1)。プログラムされた細胞死の制御因子の阻害剤の効果を調べた結果、RIPK1、RIPK3 の阻害剤を用いた際に正常細胞に囲まれた p53 変異細胞が上皮層で生存したことから、p53 変異細胞が起こしていた細胞死がネクロプトーシスによるものであることを明らかにした。これは、細胞非自発的にネクロプトーシスが生じることを初めて報告する結果である。さらに、マウス腸管オルガノイドを用いた場合でも、正常細胞に囲まれた p53 変異細胞が同様に基底膜側へ主に排除されることを示し、RIPK1 の阻害剤により基底膜側への排除が有意に抑えられた。これらの結果より、発癌初期において、細胞競合により p53 変異細胞はネクロプトーシスし、基底膜側へと逸脱することを明らかとした。本現象は培養細胞システム、マウス腸管オルガノイドで共に見られ、普遍的な現象であることが示唆された。

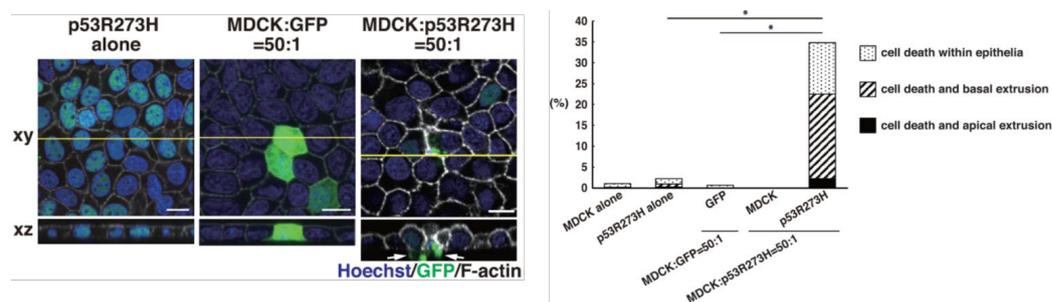


図 1 正常細胞に囲まれた p53 変異細胞の運命

3 章では、正常細胞と p53 変異細胞間に生じる細胞競合のより詳細な分子メカニズム、および多段階発癌の遺伝子変異の規則性と細胞競合との関連について述べる。正常細胞に囲まれた p53 変異細胞がネクロプトーシスにより基底膜側へ逸脱する現象に対し、さまざまな阻害剤を添加することで、現象を抑制する分子の検討を行った。その結果、p53 変異細胞の排除にはミオシンと MMP が関与していることを見出した。さらに、タイムラプスイメージングによって、p53 変異細胞に隣接する正常細胞がミオシンを上端側に集積させ、p53 変異細胞を基底膜側へ押し出していることも発見した。さらに、p53 変異と Ras 変異の順番の規則性を検討した結果、正常状態から Ras 変異、p53 変異の順に変異が入った時のみ、細胞競合が生じず、Ras、p53 の 2 つの変異を有する細胞が排除されないことを明らかにした。このことから、細胞競合により変異細胞が排除されない場合、癌化における変異の蓄積の始まりであることを示唆している。

4 章では、総括的な結論を述べている。癌化初期に変異型 p53 タンパク質を有する細胞は正常細胞との細胞競合により排除されることを示した。また、発癌性の変異を有する順番を変えた際の表現型の解析により、多段階発癌として知られる順番では変異が蓄積していくことを明らかにし、癌変異の蓄積は細胞競合現象によって制御されている可能性を示唆した。これらの p53 変異を有する細胞に関わる細胞競合現象の研究は、癌化のメカニズムの解明に貢献するものであると考えられる。