

ミトコンドリア標的化 p53 による新規がん遺伝子治療法の開発

○平島 幸治¹, 梅本 拓也¹, 浅井 知浩¹, 三原 基弘², 宮川 眞一², 奥 直人¹
(¹静岡県大葉, ²信州大医)

【目的】がん抑制タンパク質 p53 によるアポトーシス誘導機構としては、p53 が転写因子として働き、アポトーシス関連遺伝子群の転写活性化を介する経路がよく知られている。これまでに我々は、p53 自身がミトコンドリアに移行し、膜上の Bcl2ファミリーと相互作用することにより、直接的にアポトーシスを誘導する経路が存在することを明らかにした。本研究では後者の経路に着目し、ミトコンドリア標的化 p53 による新規がん遺伝子治療法の開発を試みた。

【方法】ミトコンドリア外膜タンパク質である tom5 の膜貫通ドメインをコードする配列を、p53 配列の C 末端に融合させ、ミトコンドリア標的化 p53 をコードするプラスミド DNA を構築した。このプラスミド DNA を p53-Tom5 と命名し、非小細胞肺癌 A549 細胞 (ARF-null) および H1299 細胞 (ARF+) に遺伝子導入した。in vitro において p53-Tom5 の局在、細胞増殖抑制効果などを評価した。さらに、in vivo における新規がん遺伝子治療法の開発を目指し、遺伝子導入ベクターについても検討した。

【結果および考察】A549 細胞を用い、p53-Tom5 がミトコンドリアに集積することを明らかにした。p53-Tom5 および対照の p53 は、ともに H1299 細胞の増殖を抑制した。一方、p53 耐性に繋がる ARF-null の A549 細胞においては p53-Tom5 のみ有意な増殖抑制効果を示した。さらに、p53-Tom5 を遺伝子導入した A549 細胞においてはミトコンドリア膜電位の消失が観察され、p53-Tom5 の増殖抑制効果には、ミトコンドリアの機能異常が関与することが示唆された。次に in vivo 遺伝子治療を目指し、PEG と RGD (インテグリン $\alpha\beta 3$ 親和性ペプチド) を表面修飾した新規リポソームベクターを調製した。新規ベクターを用いて p53-Tom5 を A549 細胞に遺伝子導入し、その増殖抑制効果を明らかにした。以上の結果より、p53-Tom5 はがん遺伝子治療に有用である可能性が示唆された。