幹細胞

The promises and perils of p53

p53 への期待と不安

Valery Krizhanovsky and Scott W. Lowe

Nature Vol. 460(1085-1086)/ 27 August 2009

このほど5つの研究グループが、重要な腫瘍抑制タンパク質 p53 が機能しないようにすると幹細胞の作製効率が高まることを明らかにした。こうした結果は、がん細胞と幹細胞が不気味なほど似ていることを警告しているのだろうか。

ヒトのがんでは、腫瘍抑制タンパク質 p53 のネットワークを不活性化する変異が認められる場合が多い。このため、腫瘍形成に関する研究では、p53 活性の役割と調節が重要なテーマとなっている。p53 遺伝子の遺伝性生殖細胞変異は、マウスとヒトでがんを促進させ、p53 の欠損は、さまざまな変異遺伝子と相互作用して正常細胞を腫瘍細胞に形質転換させる。p53 はストレス応答タンパク質であり、プログラム細胞死（アポトーシス）の誘発、損傷した細胞の増殖を防ぐ細胞周期チェックポイントの活性化、または老化の促進（細胞周期の恒久的な停止）によって腫瘍の形成を抑制している。したがって、p53 の活性が失われると、異常な細胞が増殖しやすくなり、ゲノムの不安定さが増大することになる。Nature 2009 年 8 月 27 日号の 5 本の論文¹⁻⁵では、p53 ネットワークの破壊が人工多能性幹細胞（iPS 細胞）の樹立にも寄与することが報告されている。こうした観察結果は p53 を幹細胞研究の表舞台に引き出すものだが、それが吉報なのか凶報なのかは、今はまだわからない。

iPS 細胞は、4 種類の転写因子（c-Myc、Klf4、Sox2、Oct4）をコードする遺伝子をマウスの線維芽細胞で強制発現させることにより、3 年前に初めて樹立された⁶。この細胞は、哺乳類の初期胚から分離された胚性幹細胞（ES 細胞）と同じ能力をもっており、自己複製を行うとともに、体のあらゆる組織の細胞を生み出すことができる。ES 細胞はさまざまな病気の潜在的な治療法として期待されているが、倫理的問題を伴う。これに対し iPS 細胞は、あらゆる人の成熟細胞から樹立することができるため、利用可能となれば、倫理的問題は回避され、免疫学的に適合性をもつドナーを求める必要もなくなると考えられる。しかし、話題にはなっているものの、iPS 細胞が人間の病気の有効な治療法になるのかどうかは、いまだに不透明である。実際、胚から作られた ES 細胞でさえわずかな試験しか行われておらず、その有効性と安全性も確立されてはいないのだ。

これまで、iPS 細胞の作製効率は高くなかった。もともと、腫瘍促進性のがん遺伝子 *c-myc* を発現させ、ベクターとして使用するウイルス DNA を含む異種 DNA をランダムに宿主ゲノムに挿入していたのが、この技術はがんを引き起こす危険性がある。その後、研究が活発に行われ、iPS 細胞の作製に *c-myc* を使わない方法⁷ やウイルスを組み込まない方法⁸、タンパク質だけを使って再プログラム化する方法⁹ が発見された。実際、iPS 細胞を作製するための「因子探し」は花盛りで、がん遺伝子探索の初期を彷彿させる。

今回の研究¹⁻⁵は、p53 の不活性化が iPS 細胞の作製効率を飛躍的に高めることを明確に示し、その熱狂に拍車をかけている。さらに京都大学の川村晃久ら³によれば、p53 を欠損させると、Oct4 と Sox2 の 2 因子だけで iPS 細胞が生じ、簡単に樹立できるようになるという。また、川村らの研究チームを含め 3 組のグループが、p53 が欠損した iPS 細胞をマウスの胚に移植すると成熟した組織が発生することも示している¹⁻³。

p53 の不活性化はゲノムの不安定化とがん化を促進することから、p53 をもたない iPS 細胞の樹立に関しては、利益よりもリスクのほうが大きい可能性がある。今回の Marion ら⁵の研究でも、p53 をもたない iPS 細胞のゲノムが不安定で、マウスを効率的に作製するための適性が不十分であることが示されている。また、Hong ら¹の研究によれば、iPS 細胞を部分的に用いてマウスを作製したとしても、最終的には腫瘍が発生してしまう。このような懸念を解消しようと、Utkal ら⁴は、恒久的ではなく一時的な p53 の阻害だけで再プログラム化の効率が高められることを示している。ただし、p53 を抑制した iPS 細胞を治療に利用するには、再構成された組織が正常に機能し、腫瘍を生じないことを明確にしなければならない。さらに、次世代シーケンシングなどのゲノム技術を利用して、そうした細胞に有害な変異が起こらないことを確認する必要がある。

治療的な意味合いは別にしても、今回の一連の研究¹⁻⁵は、p53 が細胞の再プログラム化を制限する仕組みに関して重複しながらも対照的な見解が示されており、特に、p53 ネットワークと再プログラム化経路との相互作用が直接的なものなのか間接的なものなのかについては決着がつかない。Li ら²は、細胞周期阻害因子 (p16^{Ink4a}) と間接的な p53 活性化因子 (p19^{Arf}) をコードする *Ink4a/Arf* 遺伝子座が、iPS 細胞の再プログラム化の際に抑制されていることを明らかにした。彼らは、この抑制が再プログラム化の初期に生じていると主張し、再プログラム化因子がこの遺伝子座に直接作用しているとしている。しかし、再プログラム化時の *Ink4a/Arf* 発現の抑制時期については見解が分かれている^{2,4}。

別の実験結果^{3,4}では、p53 が介在するストレス応答 (アポトーシスや老化など) の活性化を通じて、再プログラム化因子と p53 とが間接的に相互作用していることが示されている。これと合致するように、そのプロセスの重要な p53 エフェクターの1つが細胞周期阻害因子 p21 であるという証拠が、3組の研究チーム¹⁻³によって示されている。実際、Gil ら¹⁰は、老化が再プログラム化の第一の障壁であることを明らかにしており、完全な p53 ネットワークをもつ細胞は、培養中に老化しやすいことが確認されている¹¹。おそらくこのことだけで、正常細胞の再プログラム化が困難である理由が説明できるだろう。さらに、Utikal ら⁴によれば、p53 の明確な機能障害の有無によらず、自然に不死化して無制限に増殖する培養細胞は、容易に再プログラム化されて iPS 細胞となるという。

表面的にみれば、こうした研究結果は、p53 の欠損によるがん化の第一歩である細胞の不死化の促進を示した、25年前の研究¹²を連想させる。最近では、p53 が、ある種の

幹細胞の自己複製能力を制限する因子ともされている^{13,14}。iPS 細胞の分野でも、これまでの研究から、SV40 の T 抗原 (p53 を無力化する不死化発がんタンパク質) の使用、または低分子干渉 RNA による p53 の一時的な阻害によって、再プログラム化の効率が高まることが明らかにされている^{15,16}。今回の研究は、こうした知見を大幅に拡大させ、再プログラム化をさらに効果的に研究するための新たな土台となるものである。

新たな再プログラム化因子を探す競争が協同的ながん遺伝子の探索を思い起こさせるように、再プログラム化プロセスと発がんが驚くほど似ていることは、がんに関する新たな見識をもたらすと考えられる (図 1)。どちらのプロセスでも、無限に増殖して自己複製する能力をもち、分化していない細胞を生み出すことができる、協同的な遺伝子の特別な組み合わせが必要とされる。腫瘍抑制因子 p53 は、その機能が欠損すると、正常細胞が腫瘍細胞へ形質転換する過程で協同して機能するがん遺伝子の効率を大幅に高める¹⁷。細胞を再プログラム化することが最初に示された 4 遺伝子は、少なくともある種の腫瘍では、いずれも過剰発現しており、そのうち 2 つ、*c-myc* と *Klf4* は、がん遺伝子であることがわかっている。今回の一連の研究では、p53 が、再プログラム化にも同じように影響を及ぼすことがわかった。iPS 細胞の生成を確認するための標準的な検査法は、実はマウスに移植したときに胚細胞性腫瘍を形成する能力を評価する腫瘍形成検査なのだ。

iPS 細胞の樹立プロセスと腫瘍形成へのプロセスが重複するものだとすると、がん幹細胞 — 自己複製能をもち、ある種の腫瘍の増殖に必要と考えられている細胞 — は、もともと再プログラム化に似たメカニズムで発生するのではないだろうか。また、iPS 細胞への再プログラム化を引き起

こすのに必要な因子のすべてが、その維持に必要なわけではない^{8,9}。これらを考え合わせると、腫瘍形成を開始させるがん遺伝子の多くは腫瘍の進行には必要ではなく、がんの治療法の標的にはなりにくいかもしれない。そうだとするなら、今後の細胞の再プログラム化研究は、最終的にはがんの新たな治療法の開発にもつながるのかもしれない。
(小林盛方 訳)

Valery Krizhanovsky および Scott W. Lowe は、コールド・スプリング・ハーバー研究所およびハワード・ヒューズ医学研究所 (米国)

1. Hong, H. *et al. Nature* **460**, 1132-1135 (2009).
2. Li, H. *et al. Nature* **460**, 1136-1139 (2009).
3. Kawamura, T. *et al. Nature* **460**, 1140-1144 (2009).
4. Utikal, J. *et al. Nature* **460**, 1145-1148 (2009).
5. Marion, R. M. *et al. Nature* **460**, 1149-1153 (2009).
6. Takahashi, K. & Yamanaka, S. *Cell* **126**, 663-676 (2006).
7. Nakagawa, M. *et al. Nature Biotechnol.* **26**, 101-106 (2008).
8. Okita, K. *et al. Science* **322**, 949-953 (2008).
9. Zhou, H. *et al. Cell Stem Cell* **4**, 381-384 (2009).
10. Banito, A. *et al. Genes Dev.* **23**, 2134-2139.
11. Livingstone, L. R. *et al. Cell* **70**, 923-935 (1992).
12. Eliyahu, D., Raz, A., Gruss, P., Givol, D. & Oren, M. *Nature* **312**, 646-649 (1984).
13. Krizhanovsky, V. *et al. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **73**, 513-522 (2008).
14. Lin, T. *et al. Nature Cell Biol.* **7**, 165-171 (2005).
15. Mali, P. *et al. Stem Cells* **26**, 1998-2005 (2008).
16. Zhao, Y. *et al. Cell Stem Cell* **3**, 475-479 (2008).
17. Lowe, S. W. *et al. Science* **266**, 807-810 (1994).