

162 DNAJタンパク質による変異p53安定化機構の解明	戒田 篤志
----------------------------------	-------

【目的】 頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）では、p53 の変異発生頻度は半数以上と非常に高く、予後不良との密接な関連があることが知られている。私が所属していた研究室では、HSP40 ファミリーのメンバーである DNAJA1 が、構造変異型 p53 と結合し安定化させることで、変異 p53（mutp53）の分解を抑制し、癌の転移を促進することを明らかにした。しかしながら、HSP40 ファミリーには J-domain を主体とした共通構造を有する 50 種類ほどのサブタイプ（DNAJ タンパク質）が存在し、DNAJA1 以外のどの DNAJ タンパク質が mutp53 の安定化およびその蓄積に関与しているかは明らかにされていない。そこで、本研究では、HNSCC 細胞株を用い、mutp53 を安定化する DNAJ タンパク質の有無について検討した。また、新たなスクリーニング手法の構築のため、mutp53 レポーターシステムの樹立を試みた。

【方法】 細胞株は、ヒト HNSCC 細胞株であり、p53^{C176F} を有する HN31 細胞を用いた。各 DNAJ タンパク質に対する siRNA を 2 種類ずつ設計し、siRNA ライブラリーを作製した。リポフェクション法による siRNA 処理後、蛍光免疫染色により p53 を染色し、ハイスループット顕微鏡システムを用い、検出および解析を行った。また、mutp53 レポーターシステムとして、ヒト HNSCC でよく観られる変異型である p53^{R175H} を緑色蛍光タンパク質である AcGFP と融合したベクターを新規に構築し、p53 をノックアウトした HN31 細胞に導入、その有用性について検討した。

【結果】 siRNA ライブラリーを用いたスクリーニングにより、6 種類の DNAJ タンパク質に対する siRNA において p53 発現レベルを 30% 以上抑制することが示された。また、新規に構築した mutp53 レポーターシステムを導入した細胞において、p53 が緑色蛍光として観察されること、p53 タンパク質が発現していることが示されたとともに、細胞遊走能およびコロニー形成能が上昇することを見出した。今後は、本研究にて抽出された mutp53 の安定化に寄与し得る DNAJ タンパク質について検証を進めていくとともに、新たに開発されたレポーターシステムを活用し、変異パターンに応じて安定化に寄与し得る DNAJ タンパク質に違いがあるか検討していく予定である。

変異 p53 の安定化および蓄積に寄与しうる DNAJ タンパク質の同定

