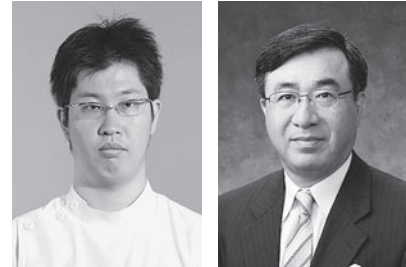


Review Articles

子宮頸癌放射線治療における p53ならびにp53関連因子の働き

群馬大学大学院医学系研究科 腫瘍放射線学 若月 優、中野 隆史



子宮頸癌はヒューマン・パピローマ・ウイルス (human papillomavirus : HPV) のあるタイプの感染がその癌化の大きな原因とされている^{1,2)}。子宮頸癌患者の90%以上から HPV が検出され、ハイリスク・タイプ (16型や18型など) では浸潤癌へ進展する可能性が高いことが知られている^{2,3)}。その HPV の発癌の機序は E6蛋白、E7蛋白が感染細胞内で腫瘍抑制因子である細胞周期調整遺伝子の RB や p53 を不活化することによると考えられている⁴⁻⁷⁾。

RB は細胞周期の主に G1期から S 期への移行を制御しており、RB が cyclin D や cyclin E の働きによりリン酸化されることにより、E2F が遊離され、cell cycle の G1期から S 期への移行が誘導される (図1)。子宮頸癌では HPV の E7蛋白が RB (または RB フミリータンパク質) と結合することにより、RB が不活化されることにより、恒常的な E2F の遊離を促進することが、癌化の原因の1つとされている^{4,5)}。

一方 p53は腫瘍抑制遺伝子として広く知られており、その mutation が多くの癌の癌化に関与していることが知られている。p53は細胞が DNA に障害を受けた時などに発現が亢進され、さまざまな標的因子を介して、細胞周期停止、DNA 修復、アポトーシス誘導などに導いている。DNA 障害を受けた細胞は細胞周期を止めることにより、DNA 修復機構が働き、障害を受けた DNA が修復する時間を確保している。また障害の修復が困難である場合は細胞をアポトーシスに誘導することにより、細胞の

恒常性を保っている。子宮頸癌においては、HPV の E6蛋白が p53のユビキチン化を促すことにより、p53の分解機構が促進され、結果として p53の機能が抑制されることが癌化の要因とされている⁵⁻⁷⁾。

放射線治療は手術にならぶ子宮癌の根治的治療法であるが⁸⁾、放射線治療においても照射により p53 が誘導され、p53依存型のアポトーシスが誘導される。その機序を簡単に説明すると図1に示すように、放射線などの DNA 損傷を受けると ATM の活性化などを介して p53が誘導される。p53は Bax や Bcl-2、RAD51、p21などの多くの標的因子を持っており、それらを誘導・抑制することにより、アポトーシスへの誘導や DNA 修復、細胞周期の停止などへ導いている⁹⁾。

子宮頸癌では、発癌にこの HPV の E6蛋白による p53機能抑制が関与している点や生検により比較的容易に腫瘍細胞が採取できる点から、p53と放射線治療に関する多くの研究がなされている。われわれの研究グループにおいても、Ishikawaらが子宮頸癌放射線治療患者の生検標本を用いて p53の Mutation の有無と治療効果の関係に関して解析を行った。その結果、原病生存率、非再発生存率、局所制御率のいずれにおいても、腫瘍の p53が wild type である患者は mutant type である患者と比較して優位に良好な成績を示していた¹⁰⁾。この結果は、子宮頸癌においては、p53の機能が HPV により抑制されているのにもかかわらず、p53の働きが放射線照射効果に関係していることを示唆している。

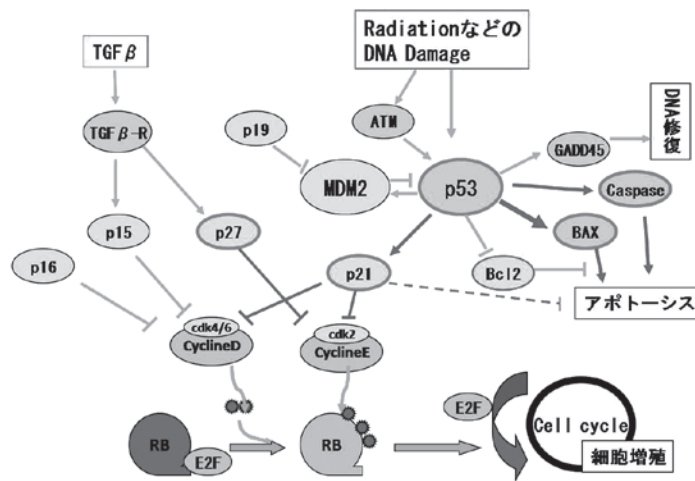


図 1

また p53 だけでなくその関連因子についても、複数の報告を行っている。Ohno らは p53 の標的因子であり、p53 依存型のアポトーシスを誘導する方向へ働く Bax と、抑制する方向に働く Bcl-2 に注目し、子宮頸癌放射線治療者の治療前・治療開始後 1 週間時点の標本を用いて、これら 2 つのタンパク質の発現とアポトーシスの関係について報告している¹¹⁾。Bax は放射線照射によって誘導され発現が増加するのに対して、Bcl-2 は照射による有意な発現増加は認められなかった。一方放射線照射により誘導されるアポトーシス発現とこれらのタンパク質発現の関係を調べると、アポトーシス発現と 1 週時点の Bax 発現の間に有意な相関関係が認められたが、Bcl-2 の発現とは有意な関係が認められなかった。また別のグループでは Harima らが子宮頸癌放射線治療患者の生検標本を用いて 1 週時点の Bax、Bcl-2 の発現と治療効果に関して研究を行い、1 週時点の腫瘍の Bax 陽性患者では陰性患者に比べて、無病再発率が有意に良好な成績であった。一方、Bcl-2 の発現については Bcl-2 陰性患者が陽性患者に比べて有意に良好な成績であった¹²⁾。この結果は、子宮頸癌においては、p53 の機能が HPV により抑制さ

れているにもかかわらず、何らかの理由で、Bax や Bcl-2 など p53 の下流のアポトーシス関連蛋白は正常に機能している可能性を示している。

われわれはこれらの放射線治療と p53 ならびに p53 関連タンパク質との関係を踏まえ、近年さらに p53 類似遺伝子である p73 に着目し研究を行った。p73 は p53 と非常に類似の構造を持っており、p53 とほぼ同様に誘導され、かつ同様の標的因子を持っていることが *in vitro*, *in vivo* の研究から明らかとなってきた。そのためわれわれは子宮頸癌患者において p53 の機能が欠如した際にこの p73 がその機能を補うことによって、アポトーシスへの誘導を行っているのではないかと仮説を設定し、放射線治療が施行され p73 蛋白の発現とアポトーシスの相関を検討した¹³⁾。

放射線治療が施行された子宮頸癌組織における p73、p53 蛋白の発現とアポトーシスの相関

放射線治療を施行した子宮頸癌患者 68 症例を対象とし、治療前・治療開始後 1 週間時点に行った生検標本を用いて、p53、p73 のタンパク質発現、ならび

にアポトーシス出現率 (AI) を測定し、それぞれの関係を分析した。放射線照射によって誘導されたアポトーシスは AI ratio (Apoptosis Index ratio) として、1 週時点の AI と治療前の AI を比較した変化の割合 (1 週時 AI/治療前 AI = AI ratio) が 2 倍より増加した症例をアポトーシス高発現群、2 倍以下であった症例を低発現群とした。また p53、p73 発現率はそれぞれ 10% をカットオフ値とし、それより高い症例を陽性とした。さらにわれわれは p53 機能が欠如している症例と機能が温存されている症例を分けるために p53 の反応により、症例を 2 群に分けて解析を行った。1 週時点の p53 発現率が治療前と比較して増加し、かつ発現率が 10% より高い症例を p53 反応群、それ以外を p53 非反応群とした。これら p53 反応群・非反応群、p73 陽性率、アポトーシス高発現群・低発現群の関係を検討した。

結果：全症例のうち 40 例 (59%) がアポトーシス高発現群、28 例 (41%) がアポトーシス低発現群であった。一方 p53 発現については治療前に 34 例 (50%) が陽性であり、9Gy 時点では 44 例 (65%) が陽性となったが、有意な変化はなかった。放射線による p53 の発現増加反応については 41 例が p53 反応群、27 例が p53 非反応群であった。次に p73 の発現については治療前に 48 例 (71%) が陽性であり、9Gy 時点では 38 例 (56%) が陽性であり有意な変化は認めなかった。また p53 陽性率と p73 陽性率の間には治療前、9Gy 時点ともに有意な相関関係は認められなかった。

次にアポトーシスの発現と p53 の陽性率、p73 の陽性率の関係を調べたところ、治療前の p53 陽性率と AI ratio の間には有意な相関関係は認められなかったが ($p=0.999$)、p73 陽性率と AI ratio の間には有意な相関関係が認められた ($p=0.042$)。また 9Gy 時点では AI ratio と p53 陽性率、p73 陽性率の間にはそれぞれ正の相関関係が認められた (p53 : $p=0.038$ 、p73 : $p=0.021$)。さらに p53 反応群、p53 非反応群の 2 群に分けて AI ratio と 9Gy 時点の p73 陽

性率の関係を検討すると、p53 反応群では AI ratio と 9Gy 時点の p73 陽性率の間に相関関係が認められなかったのに対して ($p=0.940$)、p53 非反応群では強い正の相関関係を示した ($p<0.001$)。この結果は、p53 の機能が温存されている症例においては、放射線照射によるアポトーシス誘導は p53 が大きな役割を占めており、p53 の機能が欠如した症例においてはその機能を補う形で p73 が働き、アポトーシス誘導を担っていることが推測された。

以上、これらの研究で示されるように子宮頸癌においては p53 ならびに p73 など関連タンパク質が放射線照射効果に深くかかわっていることが明らかになりつつある。このような研究を積み重ねることにより、照射中の腫瘍の放射線反応が分子レベルで解き明かされるとともに、治療前や治療開始早期に治療効果予測が可能になり、今後の放射線治療の発展に寄与するものと期待される。

【参考文献】

- 1) Schiffman MH, Bauer HM, Hoover RN, et al. : Epidemiologic evidence showing that human papillomavirus infection causes most cervical intraepithelial neoplasia. J Natl Cancer Inst 85 (12) : 958-964, 1993.
- 2) Brisson J, Morin C, Fortier M, et al. : Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia : differences between low- and high-grade lesions. Am J Epidemiol 140 (8) : 700-710, 1994.
- 3) Koutsky LA, Holmes KK, Crichtlow CW, et al. : A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. N Engl J Med 327 (18) : 1272-1278, 1992.
- 4) Shmitt A, et al. Comparison of the properties of the E6 and E7 genes of low- and high-risk cutaneous papillomaviruses reveals strongly transforming and high Rb-binding activity for the E7 protein of the low-risk human papillomavirus type 1. J Virol 68 : 7051-7059, 1994.
- 5) Ferenczy A, Franco E, et al. : Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. Lancet Oncol. 3(1) : 11-16, 2002.
- 6) O'Connor MJ. : Targeting of transcriptional cofactors by the HPV E6 protein : another tale of David and Goliath. Trends Microbiol 8 : 45-47, 2000.

- 7) Gewin L, Myers H, Kiyono T, et al. : Identification of a novel telomerase repressor that interacts with the human papillomavirus type-16 E6/E6-AP complex. *Genes Dev.* 18 : 2269-2282, 2004.
- 8) Nakano T, Kato S, Ohno T, Tsujii H, Sato S, Fukuhisa K, Arai T. Long-term results of high-dose rate intracavitary brachytherapy for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. *Cancer.* 103(1) : 92-101, 2005.
- 9) Niibe Y, Nakano T, Ohno T, Tsujii H, Oka K : Inverse correlation between radiation-induced apoptosis and p53, p21/WAF-1 in cervical cancer patients treated by radiotherapy. In press *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 44 : 297-303, 1999.
- 10) Ishikawa H, Mitsuhashi N, Sakurai H, Maebayashi K, Niibe H : The effects of p53 status and human papillomavirus infection on the clinical outcome of patients with stage IIIB cervical carcinoma treated with radiation therapy alone. *Cancer.* 91 : 80-89, 2001.
- 11) Ohno T, Nakano T, Niibe Y, Tsujii H, Oka K : Bax protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in radiation therapy for cervical carcinoma. *Cancer.* 83 : 103-110, 1998.
- 12) Harima Y, Harima K, Shikata N, Oka A, Ohnishi T, Tanaka Y : Bax and Bcl-2 expressions predict response to radiotherapy in human cervical cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.* 124 : 503-510, 1998.
- 13) Wakatsuki M, Ohno T, Iwakawa M, Ishikawa H, Noda S, Ohta T, Kato S, Tsujii H, Imai T, Nakano T : p73 Protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in the lack of p53 response to radiation therapy for cervical cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 70 : 1189-1194, 2008.

Review
Articles

持続性癌疼痛治療剤 薬価基準収載

ピーガード錠 20mg・30mg・60mg・120mg

P GUARD® Tablets (硫酸モルヒネ製剤)

劇薬 麻薬 指定医薬品 処方せん医薬品 (注意—医師等の処方せんにより使用すること)



P GUARD

鎮痛剤

日本薬局方 塩酸モルヒネ注射液 薬価基準収載

塩酸モルヒネ注射液10mg・50mg「タナベ」

Morphine Hydrochloride Injection

劇薬 麻薬 指定医薬品 処方せん医薬品 (注意—医師等の処方せんにより使用すること)

鎮痛剤

日本薬局方 塩酸モルヒネ注射液 薬価基準収載

塩酸モルヒネ注射液200mg「タナベ」

Morphine Hydrochloride Injection

劇薬 麻薬 指定医薬品 処方せん医薬品 (注意—医師等の処方せんにより使用すること)

※ 効能・効果、用法・用量、警告、禁忌、原則禁忌を含む使用上の注意等は、添付文書をご参照ください。



〈資料請求先〉

田辺三菱製薬株式会社

大阪市中央区道修町3-2-10

2008年2月作成