

ヒト血清アルブミン融合ヒトラクトフェリンの 肺がん細胞に対する p53 とフェロトーシスの検討

Antitumor Activity of Human Serum Albumin-Fused Human Lactoferrin and association with the cancer suppressor gene p53

川俣 大空

指導教員 佐藤 淳, 木村 将大

東京工科大学大学院 バイオ情報・メディア研究科 バイオニクス専攻 生物創薬研究室

本研究は、ヒト血清アルブミン融合ヒトラクトフェリンというオリジナルのタンパク質を作製し、ヒト肺腺がん細胞に対する抗腫瘍メカニズムを明らかにすることを目的とした。具体的には、抗腫瘍に関わる p53 という遺伝子との関連性や、細胞死の 1 種であるフェロトーシスの可能性を検討した。

キーワード：ヒトラクトフェリン, p53, フェロトーシス

【背景】

当研究室では、ヒトラクトフェリン (hLF) というタンパク質の抗腫瘍活性に着目し研究を行っている。既にこの抗腫瘍活性の増強を目的として、がん細胞に集積することが知られているヒト血清アルブミン (HSA) と融合したヒト血清アルブミン融合ヒトラクトフェリン (hLF-HSA) を作製し、hLF-HSA が hLF 単独よりも高い抗腫瘍活性を有することを明らかにしている¹⁾。この hLF-HSA が、低分化型ヒト肺腺がん細胞株 (PC-14 細胞) に対して、何らかの細胞死を誘導している可能性が示唆された。そこで本研究では、がん抑制遺伝子である p53 に着目した。通常、p53 が関わる抗腫瘍メカニズムのほとんどは、p53 の発現を向上させることでアポトーシス誘導し、がんを抑制することが知られている²⁾。その一方、p53 の発現を低下させる抗腫瘍メカニズムとして、鉄依存性細胞死であるフェロトーシスが引き起こされるということが報告されている³⁾。また、多くのがん細胞では p53 に変異がおきており、変異型の p53 はフェロトーシスを阻害することが知られている⁴⁾。PC-14 細胞も p53 遺伝子に変異があることからフェロトーシスを阻害している可能性がある。そこで、本研究は hLF-

HSA の抗腫瘍活性において、がん抑制遺伝子 p53 の関連性を明らかにすると共に、hLF-HSA がフェロトーシスを引き起こしているか検討した。

【方法】

hLF-HSA の PC-14 細胞における p53 の発現量への影響を検討した。PC-14 細胞に hLF-HSA を作用させ、37°C で 72 時間培養した。その後、Western Blot により p53 の発現量を評価した。

p53 をノックダウンすることで hLF-HSA の抗腫瘍活性における p53 の関連性を検討した。PC-14 細胞に p53 の siRNA を取り込ませ、37°C で 24 時間培養し p53 をノックダウンした。その後、72 時間後の細胞増殖を評価した。

フェロトーシス時に見られる細胞膜の脂質過酸化を評価するために蛍光試薬 Liperfluor を用いたアッセイを行った。PC-14 細胞に hLF-HSA を添加し、37°C で 24 時間培養した。次に、Liperfluor を添加し、30 分後共焦点レーザー顕微鏡で細胞を観察した。

【結果・考察】

hLF-HSA は PC-14 細胞の変異型 p53 の発現を抑制した。このことから、hLF-HSA は PC-14 細胞の変

異型 p53 が抑制していたフェロトーシスを誘導する可能性が示唆された。

PC-14 細胞の p53 は変異型であり、フェロトーシスを抑制している可能性がある。p53 をノックダウンした PC-14 細胞はコントロールに比べて、1割ほど細胞増殖を示した。PC-14 細胞での p53 の減少による増殖阻害はフェロトーシスに関連している可能性がある。

hLF-HSA は PC-14 細胞に対して細胞膜の脂質過酸化を引き起こすことが確認された。hLF は鉄結合能を有しており、hLF-HSA はその構造に鉄を含むことから細胞内に取り込まれたあと、鉄依存性細胞死であるフェロトーシスを引き起こす可能性がより強く示唆された。

【参考文献】

- 1) Keisuke Ueda, et al. Albumin fusion at the N-terminus or C-terminus of human lactoferrin leads to improved pharmacokinetics and anti-proliferative effects on cancer cell lines. *Eur J Pharm Sci.* 1;155:105551. (2020)
- 2) Shi-Wei Huang, et al. p53 modulates the AMPK inhibitor compound C induced apoptosis in human skin cancer cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 10.1016/j.taap.2012.12.016. (2012)
- 3) Wuyang Lv, et al. Aquaporin 1 Facilitates Ferroptosis, M1 Polarization, Mitochondrial Dysfunction, and Autophagy Damage on Lipopolysaccharide-Induced Macrophage Through Down-Regulation of P53 Signaling Pathway. *DNA Cell Biol.* 10.1089/dna.2023.0016. (2023)
- 4) Denada Dibra et, al. Mutant p53 protects triple-negative breast adenocarcinomas from ferroptosis in vivo. *Science Advances.* 10.1126/sciadv.adk1835. (2024)