

総説

腫瘍抑制遺伝子 p53 の変異とその機能回復法

川島大介, 大塚健三

中部大学応用生物学部細胞ストレス生物学教室

要 旨

p53 は、細胞内のさまざまな生物学的応答に関与する転写因子として機能し、腫瘍抑制因子として知られる。多くの腫瘍細胞では p53 遺伝子の突然変異が観察され、腫瘍の成長の進行やがん治療の困難さを引き起こしている。変異 p53 の機能を回復させることは、がん治療において非常に有益な手段であると考えられ、これまで遺伝子導入やペプチド、低分子化合物、シャペロンの利用などでその効果が示されている。p53 機能回復は新しいがん治療戦略となりうると言え、今後の進展が期待される。

1. はじめに

p53 タンパク質は SV40 によってがん化した細胞から同定され (Lane and Crawford, 1979), その遺伝子である p53 遺伝子はがん遺伝子の一つとして知られている。その産物である p53 タンパク質は腫瘍抑制因子と考えられており、細胞が遺伝的毒性を持つようなストレスにさらされた際に、細胞周期を停止させたり、アポトーシスを誘導したりすると言われている。

ヒトの腫瘍において半数以上で p53 遺伝子に変異が確認されており、転写活性を失った変異 p53 タンパク質が産生されている。また、正常な p53 タンパク質は非常に不安定であるのに対し、変異 p53 タンパク質は安定で、腫瘍細胞内に大量に蓄積される。

がん治療でよく見られる放射線や抗癌剤などは細胞に対してストレスとなり、p53 が活性化・蓄積することにより p53 シグナリングが働くことで細胞が死滅する。しかしながら、p53 に変異をもつ腫瘍細胞は、p53 のシグナリングが正常に機能しないため、それらの治療に抵抗性を示す。そこで、変異 p53 が正常に機能するように操作することが、がん治療にとってかなり有効な手段であり、新しいがん治療戦略の一つであるかもしれない。

このような観点から、変異 p53 の機能回復に関してさまざまな研究が行われている。そこで本稿では、まず p53 の機能と構造に関する概略を述べ、p53 の変

異とその種類、また、その機能回復に関するこれまでの知見について紹介する。

2. p53 の機能

p53 遺伝子は、ヒトの染色体では 17p13.1 に位置し、腫瘍抑制遺伝子として知られている。その産物である p53 タンパク質は、分子量 53,000Da・393 アミノ酸から成り、細胞周期の制御やアポトーシスのような細胞死の進行に関与する転写因子として機能している (Hartwell and Kastan, 1994; Hofseth et al., 2004; Levine, 1997)。その転写因子としての機能は、主にストレス条件下 (DNA 損傷や低酸素状態など) における p53 の活性化 (リン酸化やアセチル化など)・蓄積によって引き起こされ、p53 タンパク質同士は四量体を形成し、標的となる遺伝子群の転写調節領域の DNA 配列に特異的に結合し、それらの発現を誘導する (El-Deiry, 1998; Vogelstein and Kinzler, 2001; Vogelstein et al., 2000; Vousden and Lu, 2002)。p53 タンパク質の標的遺伝子として、①p21Waf1/Cip1 や GADD45 など細胞周期の停止に関わるもの (El-Deiry et al., 1993), ②XP-C、DDB2 などの DNA 修復に関わる遺伝子 (Hanawalt, 2002; MacLachlan et al., 2002; Takimoto et al., 2002a), ③p53 誘導性アポトーシスに関わるような Bax や caspase-6、puma など、④p53 タンパク質自体の安定化や分解に関与する

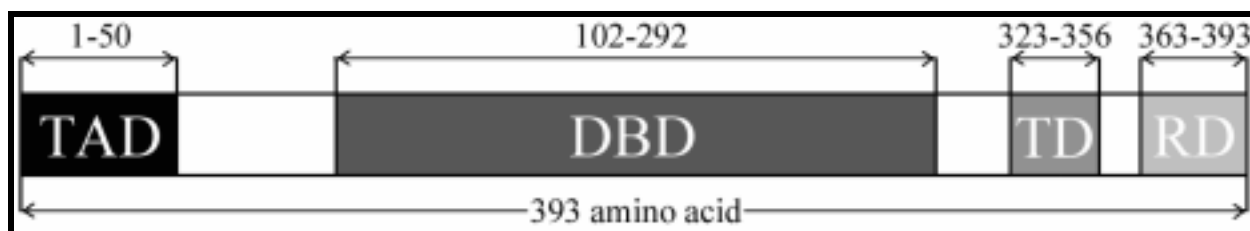


図 1 p53 の構造

TAD: transactivation domain

DBD: DNA-binding domain

TD: tetramerization domain

RD: regulatory domain

MDM2, Pirh2 (Alarcorn-Vargas and Ronai, 2002; Leng et al., 2003), ⑤抗血管新生に関わるもの (Ciarugi et al., 1998a), などさまざまな因子が挙げられる. p53 タンパク質はこれら下流遺伝子群の制御を介して, DNA 損傷の影響を最小のものとしようとすることからゲノムの守護神 (the guardian of the genome) とも呼ばれている (Lane, 1992). よって, p53 遺伝子が増変することは, 細胞増殖の制御ができず, 多くの細胞ががん化していくこととなる.

3. p53 の構造

p53 タンパク質は, 図 1 に示すような機能的な 4 つのドメイン構造を有している. まず, N 末端側に transactivation domain (TAD) を持ち, 転写活性と MDM2 結合を調節している (Alarcorn-Vargas and Ronai, 2002). 中央部には DNA-binding domain (DBD) が存在し, 前述したような標的遺伝子のプロモーター部位に配列特異的に結合することができる (Kern et al., 1991; Klein et al., 2001; El-Deiry et al., 1992). C 末端側には, 四量体形成に関わる tetramerization domain (TD) (Sturzbecher et al., 1992) と, regulatory domain (RD) と呼ばれる p53 自身の DNA 結合と転写活性を阻害するように機能するドメインが存在する (Ciarugi et al., 1998b; Wolkowicz and Root, 1997).

4. がんと p53 の変異

p53 はすべてのがんにおいて 50%以上の頻度で変異が起こっていることが知られ, それは抗がん剤などの化学療法や放射線治療に対する抵抗性を引き起

こしている (Lane et al., 2003; Bullock et al., 2001). 変異の多くは, DNA-binding domain 内の 1 塩基置換である. これらの変異は, 主に二つに分けられ, DNA との接触に関与するアミノ酸残基の置換 (これを DNA contact mutant と呼ぶ) と, p53 core の構造変化を引き起こすような残基の置換 (これを structural mutant と呼ぶ) がある. 前者には, SW460 細胞 (human colon carcinoma) などに見られる R273H (273 番目のアルギニンがヒスチジンに置換している. 以下同様.) や, CL1-5 細胞 (human lung adenocarcinoma) などに見られる R248W, 後者では SK-UT-1 細胞 (human leiomyosarcoma) などで見られる R175H や, BT-549 細胞 (human breast cancer cell) などに見られる R249S が挙げられるが, その種類は非常に膨大である. そこで, 腫瘍と変異 p53 に関するデータはデータベース化されており, これまでさまざまな解析に用いられている. また, 変異 p53 の中には, V143A や A138V のように 37°C では不活性であるが, 32°C で活性化するような温度感受性変異 (temperature-sensitive mutant) と呼ばれる特徴的な変異も存在する (Zhang et al., 1994; Pochampally et al., 1999). さまざまな腫瘍細胞と変異の種類に関しては Berglind らの論文にまとめられている (Berglind et al., 2008).

5. がん治療に向けた p53 機能回復の戦略

このように, p53 はがんの抑制に関わっている一方で, 腫瘍細胞においては p53 の変異が多く見られ, p53 経路が崩壊していることから, p53 の機能を正常に回復させることが出来れば, がん治療 (放射線治

療や化学療法) への感受性を高められるであろう。このような観点から、新たながん治療の戦略として、腫瘍細胞における変異 p53 の機能回復を目的とした研究が多数なされている。ここでその例を示す。

① p53 遺伝子治療

この方法は、p53 機能を回復するというよりむしろ、外部から正常な p53 の遺伝子を導入し、その機能を用いてがん細胞の増殖抑制やアポトーシス誘導をしようという戦略である (Blagosklonny and El-Deiry, 1996)。実際には、アデノウイルスをベクターとして正常な p53 遺伝子を保持させ、標的とする細胞へのウイルス感染で遺伝子導入を行っている (Fujiwara et al., 2000; Wilson, 2002)。これまで、遺伝子導入により *in vivo* において細胞死と腫瘍抑制が観察されており、頭頸部がんや膀胱がん、非小細胞肺癌などで臨床治験がなされている (Lang et al., 2003; Pagliaro et al., 2003; Schuler et al., 1998; Swisher et al., 1999)。しかしながら、正常な p53 は MDM2 によって急速に分解されることが知られ、また、変異 p53 が存在することでドミナントネガティブ効果によりその機能が不活化されてしまうため、使用が制限されてしまう可能性もある。そのため、化学療法との併用による効果の増大が期待され、臨床試験も行われている (Schuler et al., 2001)。

② p53C 末端ペプチド

p53 タンパク質から派生する一連の C 末端ペプチドは、p53C 末端に存在する regulatory domain を妨害することが知られ、p53 の機能を強化あるいは回復する。中でも、peptide46 と呼ばれる p53 の 361-382 に相当する 22 アミノ酸からなる合成ペプチドは、変異 p53 を保持する細胞においてその DNA 結合活性と転写活性を回復させる (Selivanova et al., 1997)。これは、peptide46 の Lys 残基が特に重要な役割を果たしており、p53 core と相互作用することで p53 の機能を回復していることが示されている (Selivanova et al., 1999)。利点は、この効果は変異 p53 に依存しており、正常な p53 を保持する細胞や p53 を持たないような細胞には毒性を示さないことである。しかし、治療という面では、腫瘍へのペプチドの導入に関して困難

さが残る。

③ 低分子化合物

p53 の機能回復やそのシグナリングに効果を示すような低分子化合物の探索も行われており、ここでこれまでに報告されている化合物について紹介する。

i) CP-31398

1999 年、Foster らは 10 万種以上の合成化合物のスクリーニングによって、*in vitro* において変異 p53 のエピトープを正常なエピトープに回復させる化合物を同定した (Foster et al., 1999)。これが CP-31398 であり (図 2)、変異 p53 の構造を正常に回復させる化合物として初めての報告である。この報告では、V173A 変異 p53 に関して構造回復および p21 転写活性の回復が示され、また、*in vivo* において DLD1 colon carcinoma (241 の位置に変異) および A375.S2 melanoma (249 の位置に変異) の移植腫瘍の増殖抑制効果が示されている。また、CP-31398 は正常型 p53 の発現量の増加や活性化を促進させることが知られる。これは、CP-31398 が p53 のユビキチン化と分解をブロックすることやリン酸化を介さずに p53 の活性化をすることができる効果をもつためである (Luu et al., 2002; Takimoto et al., 2002b; Wang et al., 2003)。また、CP-31398 は、p53 の DNA 結合活性を回復することが出来る一方、p53 のホモログである p63 や p73 には効果を示さない (Demma et al., 2004)。よって、CP-31398 は p53 に特異的に働くと言えるが、CP-31398 と p53 の直接の相互作用など明確な作用機序は分かっていない。ただし、CP-31398 は新規に合成される p53 に作用し構造を変化させるようである。

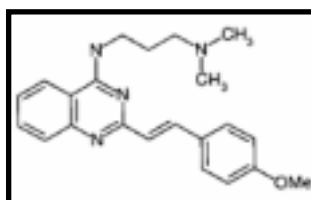


図 2 CP-31398 の構造

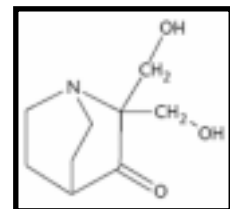


図 3 PRIMA-1 の構造

ii) PRIMA-1

PRIMA-1 (図 3) は、変異 p53 を発現する細胞を使った化合物ライブラリーのスクリーニングによって見つ

かった 2 つめの変異 p53 機能回復化合物である (Bykov et al., 2002). PRIMA-1 は, p53 reactivation and induction of massive apoptosis の略であり, 変異 p53 の発現に依存して, p53 活性回復とアポトーシス誘導を行う. この論文では, R175H および R273H への有効性が示されている. また, in vivo においても移植腫瘍への抗腫瘍効果も示されている. 興味深いことに, 変異 p53 を保持した細胞の方が正常 p53 を保持した細胞に比べ PRIMA-1 に対する感受性が高いというデータが示されており, PRIMA-1 は変異 p53 と正常 p53 両方に機能する CP-31398 とは異なり, 変異 p53 にしか効果を示さないようである. しかし, PRIMA-1 が変異 p53 を回復し, アポトーシスを誘導するメカニズムは未だよく理解されていない. 一つの可能性として, PRIMA-1 は Hsp90 の発現を誘導し, 変異 p53 との結合を強化するようであるため (Rehman et al., 2005), 誘導された Hsp90 が変異 p53 の再活性化に関与しているのかもしれない.

iii) WR1065

細胞防護剤 amisfostine の代謝物である WR1065 は, 温度感受性 p53 である V272M を正常な構造に回復する (North et al., 2002). これは, DNA 結合活性を回復し, p53 の標的遺伝子の発現を誘導することで細胞を G1 期阻害に導くようである. WR1065 は, 正常な p53 に対しても効果を持ち, p53 の蓄積と活性化を起こさせるが, それは DNA 損傷とは独立したリン酸化と安定化が関与している (Pluquet et al., 2003).

iv) ellipticine

キョウチクトウなどの植物に含まれるアルカロイドの一種である ellipticine は, 古くからトポイソメラーゼ II 阻害効果を持ち, 抗腫瘍効果を有することが知られる. ellipticine とその誘導体数種は R175H や R248W などさまざまな変異 p53 の転写機能を回復する (Peng et al., 2003). ellipticine は変異 p53 の構造を変え, DNA 結合活性を回復させる. また, 変異 p53 に依存してアポトーシスを誘導し, マウスへの移植腫瘍においても変異 p53 の活性化を引き起こす. ellipticine は contact mutant と structural mutant の両方に作用し, また温度感受性変異においても効果が見られるよう

である. CP-31398 は p53 の熱変性に対して防護するのに対して, ellipticine にそのような効果は見られず, CP-31398 とは違った作用機序であるのかもしれない. いずれにしても, 変異 p53 に対する ellipticine の明確な作用機序は不明である.

v) MIRA 化合物

PRIMA-1 が同定されたスクリーニング法と同様の方法で MIRA-1 が発見された (Bykov et al., 2005). mutant p53 reactivation and induction of rapid apoptosis の略から名付けられ, 構造は図 4 のようなものである. MIRA-1 は R175H 変異 p53 や R273H 変異 p53 を発現した細胞において増殖抑制効果を示し, そのアナログである MIRA-2 および MIRA-3 においても同様の効果が確認された. これらも, 変異 p53 の構造を変化させ, DNA 結合活性を回復することで下流遺伝子発現を誘導, それに依存したアポトーシスを誘導する. また, in vivo においても MIRA-3 による移植腫瘍の増殖抑制が確認されている. しかしながら, 高濃度において体重減少や下痢などの毒性を示すようである.

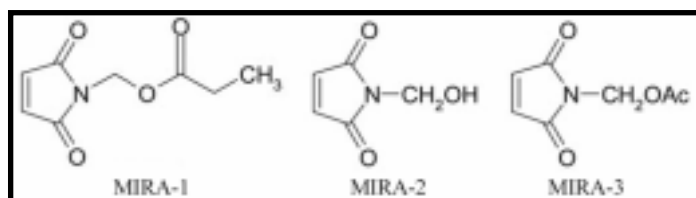


図 4 MIRA 化合物の構造

6. 化学シャペロンを用いた p53 の機能回復

変異 p53 の構造を正常な p53 の構造に変える方法として, 化学シャペロンを用いた方法も行われているため, ここでその例を紹介したい. シャペロン (chaperone) とは, 変性あるいは変異によって失活してしまったタンパク質の構造を元の構造に変化させ, 活性を取り戻させる働きを持つ分子のことを言う. シャペロン機能を持つ低分子化合物は化学シャペロンと呼ばれ, glycerol や trimethylamine N-oxide などが知られる. 1997 年, Brown らによって, 温度感受性 p53 の機能がこれら 2 つの化合物のシャペロン機能を用いることで回復するという報告がなされた (Brown et al., 1997). 続いて, Ohnishi らは, 変異 p53 を保持す

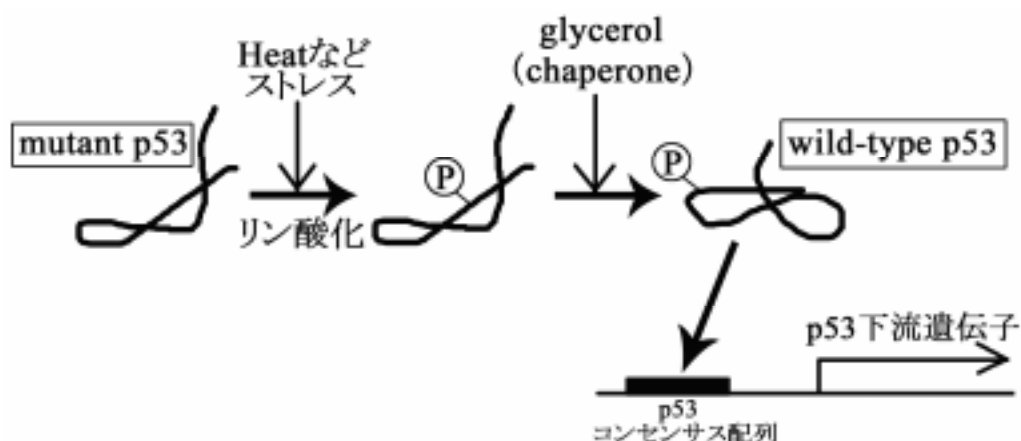


図5 化学シャペロンによる変異 p53 機能回復モデル

化学シャペロンは、リン酸化をうけた変異 p53 に対して、構造変化を促し、p53 下流遺伝子の発現が誘導できるようにする (Ohnishi et al., 2001; Ohnishi et al., 2002 を引用)。

る T98G 細胞や A7 細胞において glycerol 処理と温熱処理の併用における p53 下流遺伝子産物である WAF1 の誘導を確認した (Ohnishi et al., 1999a)。これは、併用処理による p53 の DNA 結合活性の回復に伴うものであり、その結果、アポトーシスの誘導も観察されている (Ohnishi et al., 1999b)。この効果は、glycerol と温熱の併用のみではなく、glycerol と X 線処理の併用や、glycerol と白金製剤である CDDP の併用処理でも観察される (Ohnishi et al., 2000; Yuki et al., 2004a; Yuki et al., 2004b)。このように、glycerol は p53 の構造変化を誘導し、変異 p53 を正常な機能に回復すると言える (図 5)。

7. おわりに

このように、腫瘍と変異 p53 の関係は非常に深く、変異 p53 の機能回復によって難治療性の腫瘍に関しても治療効果の増大が期待される。しかしながら、機能回復をもたらす手段のいくつかは、効率やコスト、安全性の面などで問題点は多数残っていると言えよう。また、低分子化合物に関しては、メカニズムがはっきりしていないものも多く、これからの進展が期待される。

筆者らは、現在、化学シャペロンの利用を応用し、分子シャペロンである HSPs (熱ショックタンパク質, Heat Shock Proteins) の利用を検討中であり、HSPs を増加させる目的でこれまでに知られている各種の

HSP 誘導剤を使用した研究を行っている。未発表なデータではあるが、温度感受性 p53 である V143A において機能回復の効果が得られるようである。これらのことから、がん治療において分子シャペロンの利用が有効である可能性あり、生体内の問題は生体内の分子で解決できるかもしれない。

引用文献

- Alarcon-Vargas, D., Ronai, Z. (2002) p53-Mdm2--the affair that never ends. *Carcinogenesis*, 23:541-547.
- Berglind, H., Pawitan, Y., Kato, S., Ishioka, C., Soussi, T. (2008) Analysis of p53 mutation status in human cancer cell lines: a paradigm for cell line cross-contamination. *Cancer Biol. Ther.*, 7:699-708.
- Blagosklonny, M.V., El-Deiry, W.S. (1996) In vitro evaluation of a p53-expressing adenovirus as an anti-cancer drug. *Int. J. Cancer*, 67:386-392.
- Brown, C.R., Hong-Brown, L.R., Welch, W.J. (1997) Correcting temperature-sensitive protein folding defects. *J. Clin. Invest.*, 99:1432-1444.
- Bullock, A.N., Fersht, A.R. (2001) Rescuing the function of mutant p53. *Nat. Rev. Cancer*, 1:68-76.
- Bykov, V.J., Issaeva, N., Shilov, A., Hultcrantz, M.,

- Pugacheva, E., Chumakov, P., Bergman, J., Wiman, K.G., Selivanova, G. (2002) Restoration of the tumor suppressor function to mutant p53 by a low-molecular-weight compound. *Nat. Med.*, 8:282-288.
- Bykov, V.J., Issaeva, N., Zache, N., Shilov, A., Hultcrantz, M., Bergman, J., Selivanova, G., Wiman, K.G. (2005) Reactivation of mutant p53 and induction of apoptosis in human tumor cells by maleimide analogs. *J. Biol. Chem.*, 280:30384-30391.
- Chiarugi, V., Magnelli, L., Gallo, O. (1998a) Cox-2, iNOS and p53 as play-makers of tumor angiogenesis (review). *Int. J. Mol. Med.*, 2:715-719.
- Chiarugi, V., Cinelli, M., Magnelli, L. (1998b) Acetylation and phosphorylation of the carboxy-terminal domain of p53: regulative significance. *Oncol. Res.*, 10:55-57.
- Demma, M.J., Wong, S., Maxwell, E., Dasmahapatra, B. (2004) CP-31398 restores DNA-binding activity to mutant p53 in vitro but does not affect p53 homologs p63 and p73. *J. Biol. Chem.*, 279:45887-45896.
- El-Deiry, W.S., Kern, S.E., Pietenpol, J.A., Kinzler, K.W., and Vogelstein, B. (1992) Definition of a consensus binding site for p53. *Nat. Genet.*, 1:45-49.
- El-Deiry, W.S., Tokino, T., Velculescu, V.E., Levy, D.B., Parsons, R., Trent, J.M., Lin, D., Mercer, W.E., Kinzler, K.W., Vogelstein, B. (1993) WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression. *Cell*, 75:817-825.
- El-Deiry, W.S. (1998) Regulation of p53 downstream genes. *Semin Cancer Biol.*, 8:345-357.
- Foster, B.A., Coffey, H.A., Morin, M.J., Rastinejad, F. (1999) Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function. *Science*, 286:2507-2510.
- Fujiwara, T., Kataoka, M., Tanaka, N. (2000) Adenovirus-mediated p53 gene therapy for human cancer. *Mol. Urol.*, 4:51-54.
- Hanawalt, P.C. (2002) Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene*, 21:8949-8956.
- Hartwell, L.H., and Kastan, M.B. (1994) Cell cycle control and cancer. *Science*, 266: 1821-1828.
- Hofseth, L.J., Hussain, S.P., and Harris, C.C. (2004) p53: 25 years after its discovery. *Trends Pharmacol. Sci.*, 25:177-181.
- Kern, S.E., Kinzler, K.W., Bruskin, A., Jarosz, D., Friedman, P., Prives, C., and Vogelstein, B. (1991) Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein. *Science*, 252:1708-1711
- Klein, C., Planker, E., Diercks, T., Kessler, H., Kunkele, K. P., Lang, K., Hansen, S., and Schwaiger, M. (2001) NMR spectroscopy reveals the solution dimerization interface of p53 core domains bound to their consensus DNA. *J. Biol. Chem.*, 276:49020-49027.
- Lane, D.P., Crawford, L.V. (1979) T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature*, 278:261-263.
- Lane, D.P. Cancer. (1992) p53, guardian of the genome. *Nature*, 358:15-16.
- Lane, D.P., Hupp, T.R. (2003) Drug discovery and p53. *Drug Discov. Today*, 8:347-355.
- Lang, F.F., Bruner, J.M., Fuller, G.N., Aldape, K., Prados, M.D., Chang, S., Berger, M.S., McDermott, M.W., Kunwar, S.M., Junck, L.R., Chandler, W., Zwiebel, J.A., Kaplan, R.S., Yung, W.K. (2003) Phase I trial of adenovirus-mediated p53 gene therapy for recurrent glioma:biological and clinical results. *J. Clin. Oncol.*, 21:2508-2518.
- Leng, R.P., Lin, Y., Ma, W., Wu, H., Lemmers, B., Chung, S., Parant, J.M., Lozano, G., Hakem, R.,

- Benchimol, S. (2003) Pirh2, a p53-induced ubiquitin-protein ligase, promotes p53 degradation. *Cell*, 112:779-791.
- Levine, A.J. (1997) p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell*, 88:323-331.
- Luu, Y., Bush, J., Cheung, K.J.Jr., Li, G. (2002). The p53 stabilizing compound CP-31398 induces apoptosis by activating the intrinsic Bax/mitochondrial/caspase-9 pathway. *Exp. Cell Res.*, 276:214-222.
- MacLachlan, T.K., Takimoto, R., El-Deiry, W.S. (2002) BRCA1 directs a selective p53-dependent transcriptional response towards growth arrest and DNA repair targets. *Mol. Cell Biol.*, 22:4280-4292.
- North, S., Pluquet, O., Maurici, D., El-Ghissassi, F., Hainaut, P. (2002) Restoration of wild-type conformation and activity of a temperature-sensitive mutant of p53 (p53 (V272M)) by the cytoprotective aminothiol WR1065 in the esophageal cancer cell line TE-1. *Mol. Carcinog.*, 33:181-188.
- Ohnishi, K., Ota, I., Takahashi, A., Ohnishi, T. (2000) Glycerol restores p53-dependent radiosensitivity of human head and neck cancer cells bearing mutant p53. *Br. J. Cancer*. 83:1735-1739.
- Ohnishi, K., Ohnishi, T. (2001) Heat-induced p53-dependent signal transduction and its role in hyperthermic cancer therapy. *Int. J. Hyperthermia*, 17:415-27.
- Ohnishi, T., Ohnishi, K., Wang, X., Takahashi, A., Okaichi, K. (1999a) Restoration of mutant TP53 to normal TP53 function by glycerol as a chemical chaperone. *Radiat. Res.*, 151:498-500.
- Ohnishi, T., Matsumoto, H., Wang, X., Takahashi, A., Tamamoto, T., Ohnishi, K. (1999b) Restoration by glycerol of p53-dependent apoptosis in cells bearing the mutant p53 gene. *Int. J. Radiat. Biol.*, 75:1095-1098.
- Ohnishi, T., Ohnishi, K., Takahashi, A. (2002) Glycerol restores heat-induced p53-dependent apoptosis of human glioblastoma cells bearing mutant p53. *BMC Biotechnol.*, 2:6.
- Pagliaro, L.C., Keyhani, A., Williams, D., Woods, D., Liu, B., Perrotte, P., Slaton, J.W., Merritt, J.A., Grossman, H.B., Dinney, C.P. (2003) Repeated intravesical instillations of an adenoviral vector in patients with locally advanced bladder cancer:a phase I study of p53 gene therapy. *J. Clin. Oncol.*, 21:2247-2253.
- Peng, Y., Li, C., Chen, L., Sebt, S., Chen, J. (2003) Rescue of mutant p53 transcription function by ellipticine. *Oncogene*, 22:4478-4487.
- Pluquet, O., North, S., Richard, M.J., Hainaut, P. (2003). Activation of p53 by the cytoprotective aminothiol WR1065: DNA-damage-independent pathway and redoxdependent modulation of p53 DNA-binding activity. *Biochem. Pharmacol.* 65:1129-1137.
- Pochampally, R., Fodera, B., Chen, L., Lu, W. Chen, J. (1999) Activation of an MDM2-specific caspase by p53 in the absence of apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 274:15271-15277.
- Rehman, A., Chahal, M.S., Tang, X., Bruce, J.E., Pommier, Y., Daoud, S.S. (2005) Proteomic identification of heat shock protein 90 as a candidate target for p53 mutation reactivation by PRIMA-1 in breast cancer cells. *Breast Cancer Res.*, 7:765-774.
- Schuler, M., Rochlitz, C., Horowitz, J.A., Schlegel, J., Perruchoud, A.P., Kommoss, F., Bolliger, C.T., Kauczor, H.U., Dalquen, P., Fritz, M.A., Swanson, S., Herrmann, R., Huber, C. (1998) A phase I study of adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Hum. Gene Ther.*

9:2075-2082.

- Schuler, M., Herrmann, R., De Greve, J.L., Stewart, A.K., Gatzemeier, U., Stewart, D.J., Laufman, L., Gralla, R., Kuball, J., Buhl, R., Heussel, C.P., Kommoss, F., Perruchoud, A.P., Shepherd, F.A., Fritz, M.A., Horowitz, J.A., Huber, C., Rochlitz, C. (2001) Adenovirus-mediated wild-type p53 gene transfer in patients receiving chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer: results of a multicenter phase II study. *J. Clin. Oncol.*, 19:1750-1758.
- Selivanova, G., Iotsova, V., Okan, I., Fritsche, M., Ström, M., Groner, B., Grafström, R.C., Wiman, K.G. (1997) Restoration of the growth suppression function of mutant p53 by a synthetic peptide derived from the p53 C-terminal domain. *Nat. Med.*, 3:632-638.
- Selivanova, G., Ryabchenko, L., Jansson, E., Iotsova, V., Wiman, K.G. (1999) Reactivation of mutant p53 through interaction of a C-terminal peptide with the core domain. *Mol. Cell Biol.*, 19:3395-3402.
- Sturzbecher, H.W., Brain, R., Addison, C., Rudge, K., Remm, M., Grimaldi, M., Keenan, E., and Jenkins, J.R. (1992) A C-terminal alpha-helix plus basic region motif is the major structural determinant of p53 tetramerization. *Oncogene*, 7:1513-1523.
- Swisher, S.G., Roth, J.A., Nemunaitis, J., Lawrence, D.D., Kemp, B.L., Carrasco, C.H., Connors, D.G., El-Naggar, A.K., Fossella, F., Glisson, B.S., Hong, W.K., Khuri, F.R., Kurie, J.M., Lee, J.J., Lee, J.S., Mack, M., Merritt, J.A., Nguyen, D.M., Nesbitt, J.C., Perez-Soler, R., Pisters, K.M., Putnam, J.B.Jr., Richli, W.R., Savin, M., Schrupp, D.S., Shin, D.M., Shulkin, A., Walsh, G.L., Wait, J., Weill, D., Waugh, M.K. (1999) Adenovirus-mediated p53 gene transfer in advanced non-small-cell lung cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, 91:763-771.
- Takimoto, R., MacLachlan, T.K., Dicker, D.T., Niitsu, Y., Mori, T., El-Deiry, W.S. (2002a) BRCA1 transcriptionally regulates damaged DNA binding protein (DDB2) in the DNA repair response following UV-irradiation. *Cancer Biol. Ther.*, 1:177-186.
- Takimoto, R., Wang, W., Dicker, D.T., Rastinejad, F., Lyssikatos, J., El-Deiry, W.S. (2002b). The mutant p53-conformation modifying drug, CP-31398, can induce apoptosis of human cancer cells and can stabilize wild-type p53 protein. *Cancer Biol. Ther.*, 1:47-55.
- Vogelstein, B., Lane, D., Levine, A.J. (2000) Surfing the p53 network. *Nature*, 408:307-310.
- Vogelstein, B., Kinzler, K.W. (2001) Achilles' heel of cancer? *Nature*, 412:865-866.
- Vousden, K., Lu, X. (2002) Live or let die: the cell's response to p53. *Nat. Rev. Cancer*, 2: 594-604.
- Wang, W., Takimoto, R., Rastinejad, F., El-Deiry, W.S. (2003) Stabilization of p53 by CP-31398 inhibits ubiquitination without altering phosphorylation at serine 15 or 20 or MDM2 binding. *Mol. Cell Biol.*, 23:2171-2181.
- Wilson, D.R. (2002) Viral-mediated gene transfer for cancer treatment. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 3:151-164.
- Wolkowicz, R., Rotter, V. (1997) The DNA binding regulatory domain of p53: see the C. *Pathol. Biol (Paris)*., 45:785-796.
- Yuki, K., Takahashi, A., Ota, I., Ohnishi, K., Yasumoto, J., Kanata, H., Yane, K., Hosoi, H., Ohnishi, T. (2004a) Glycerol enhances CDDP-induced growth inhibition of thyroid anaplastic carcinoma tumor carrying mutated p53 gene. *Oncol. Rep.*, 11:821-824.
- Yuki, K., Takahashi, A., Ota, I., Ohnishi, K., Yasumoto, J., Yane, K., Kanata, H., Okamoto, N., Hosoi, H., Ohnishi, T. Sensitization by

glycerol for CDDP-therapy against human cultured cancer cells and tumors bearing mutated p53 gene. *Apoptosis*, 9:853-859.

Zhang, W., Guo, X.Y., Hu, G.Y., Liu, W.B., Shay, J.W.

Deisseroth, A.B. (1994) A temperature-sensitive mutant of human p53. *EMBO J.*, 13:2535–2544.

Title : Mutation of Tumor Suppressor Gene p53 and its Functional Restoration

Author(s) : Daisuke Kawashima, Kenzo Ohtsuka

Address(es) :Laboratory of Cell & Stress Biology.
College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University.

Keywords : tumor, mutant p53, functional restoration, chaperone