

RB 遺伝子のはたらき について

令和 6 (2024) 年 7 月 19 日 神戸国際展示場 での酒井敏行教授インタビューおよび関連資料から

2024 年 7 月 25 日
東洋酵素化学株式会社
学術調査室室長
女子栄養大学名誉教授
林 修

RB 遺伝子 (retinoblastoma gene 網膜芽細胞腫(RB)遺伝子) は初めてのがん抑制遺伝子として発見された (1986 年)。後に、結果として多くの悪性腫瘍において、RB 遺伝子はタンパク質レベルで不活性化されていることが酒井教授の研究により明らかにされた。RB 遺伝子は、細胞周期の G1 期 R-ポイント (制限点 restriction point) に作用してがん化を抑える最も重要な分子といえ、その失活は発がんに至る必要十分条件とされる。

註 ヒト RB 遺伝子 (200kb) は第 13 染色体上に位置し、27 エクソンから成る。それにより RB タンパク質合成が誘導され、928 アミノ酸残基 (110kDa) からなる RB タンパク質が合成される。RB タンパク質はがん細胞増殖過程における細胞周期のうち、G1 期にはリン酸化されていないが、S 期になる直前で多くのリン酸化を受ける。RB タンパク質がリン酸化されると不活性化型になり、転写因子 E2F を遊離する。E2F は転写因子としてはたらき S 期への初期遺伝子群を活性化し細胞増殖が進行する。脱リン酸化されて活性化型になることで S 期の進行は阻害され、G1 期で停止するためがん細胞増殖は制止される。カカドゥプラムは RB タンパク質の脱リン酸化に働くことが確認されている。

酒井教授らは、RB 遺伝子が過剰メチル化により失活することを見出した一方、新規のがん分子標的薬のスクリーニング法である「RB 活性化スクリーニング」を考案し、腫瘍細胞の増殖につながるシグナル伝達経路のひとつである MEK (MAPK/ERK kinase) の阻害剤として新たな抗がん剤トラメチニブ (商品名メキニスト) の発見に至った。

また酒井教授は、公衆衛生的立場から、また がん予防医学 preventive medicine ないし先制医療 preemptive medicine の見地から、RB 活性化能を有する食品成分のスクリーニングを試み、ビタミン D3 やスルフォラファン、フラボン、ATRA (all-trans retinoic acid)、ブラシニン、セサミン、フコキサンチンなどに活性のあることを確認している。また世界中の果実を精査し、オーストラリアの先住民アボリジナルが食用するカカドゥプラムと、日本人にも馴染みのあるザクロの果汁が RB 活性化能を有することを近年発見、中でもカカドゥプラムに最も強い活性を見出した。そこで、カカドゥプラムを主成分に、がん予防効果が知られている乳酸菌を配合した飲料を開発した (Mitsuharu Masuda *et al.*: *Environmental Health and Preventive Medicine*28:54 (2023))。このカカドゥプラム、ザクロ、植物性乳酸菌に加え、さらにはがんや動脈硬化等に予防効果があるとされる、リンゴ、フィチン酸、イノシトールを混合した、「RB7days」という商品名の果実飲料を創製した。

上記 *Environmental Health and Preventive Medicine* (2023)によれば、カカドゥプラムとザ

クロに含まれるコリラギン **corilagin** および プニカラギン **punicalagin** が RB 活性化能に関与しているようで、カカドゥプラムにとくに多いビタミン C は関与していないらしい。また、この他に新規物質の発見も期待できるかもしれない。

植物性乳酸菌 *Lactobacillus plantarum* は NK 細胞のはたらきを活性化することが知られているが、さらにがん予防にはたらく TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) タンパク質の発現がヒトでも促進されることことも本論文にて明らかにした。

RB 遺伝子は、上記のように G1/S チェックポイントにて細胞増殖を正常に調節する遺伝子であると同時にまた“ヒーロー遺伝子 **Hero gene**”とも呼ばれ、殆どの腫瘍細胞に対して影響を与えている。RB の活性は発がん抑制に有用なだけでなく、心筋梗塞や脳梗塞などの動脈硬化性疾患、種々の炎症性疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病などの神経性疾患にも抑制的に働くことが基礎実験により知られている。様々な疾患の予防戦略の最有力候補として期待できる。

以上

2024年11月27日



東洋酵素化学株式会社
学術調査室
林 修

RB 遺伝子～“ヒーロー遺伝子”としてのはたらき カカドゥプラムと老化細胞の関係について

RB 遺伝子は、がん抑制^{*1}に働く。更に老化細胞とその分泌する炎症性物質との関連においても影響を与えている。また RB 遺伝子は、アテローム（粥状）性動脈硬化、虚血性心疾患、炎症性疾患、アルツハイマー病やパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）といった神経変性傷害、さらに脳卒中に対して抑制的に働くとしている。このことから、RB 遺伝子はまた“ヒーロー遺伝子 Hero gene”^{*2}とも呼ばれ、様々な疾患の予防戦略の最有力候補として期待される。

ここでは老化細胞とその炎症性物質の分泌、それに対するカカドゥプラムが及ぼす影響、また RB 遺伝子と種々の炎症性疾患との関連について記述する。

*1 *Mitsuharu Masuda et al.: Environmental Health and Preventive Medicine 28:54 (2023)*

*2 ヒト RB 遺伝子 (200kb) は第 13 染色体上に位置し、それにより RB タンパク質合成が誘導され、928 アミノ酸残基 (110kDa) からなる RB タンパク質が合成される。RB タンパク質はがん細胞増殖過程における細胞周期のうち、G1 期にはリン酸化されていないが、S 期になる直前で多くのリン酸化を受ける。RB タンパク質がリン酸化されると不活性型になり、転写因子 E2F を遊離する。E2F は転写因子としてはたらき S 期への初期遺伝子群を活性化し細胞増殖が進行する。脱リン酸化されて活性型になることで S 期への進行は阻害され、G1 期で停止するためがん細胞増殖は制止される。カカドゥプラムは RB タンパク質の脱リン酸化に働くことが確認されている。

1. 細胞老化と SASP

細胞老化を起こした細胞から、炎症作用や発がん促進作用を有する炎症性サイトカインやケモカイン、細胞外マトリクス分解酵素などの様々な因子が分泌され Senescence-associated secretory phenotype (SASP)^{*3}と呼ばれる現象を起こすことが明らかになった。このため、加齢とともに生体内に老化細胞が増えると、老化細胞から分泌される SASP 因子を介して周囲の組織に慢性炎症や発がんが引き起こされていると考えられる。細胞老化はがん抑制と発がん促進の両方に働いていると考えられる。

(日老医誌 2016;53:88-94 より)

*3 SASP : 細胞老化随伴分泌現象

細胞老化は SASP を通して加齢性疾患を増悪することが以前から知られている (図 1)。健全な組織・細胞が酸化ストレスや炎症、加齢、環境因子による DNA 損傷などを受けると細胞老化がすすみ、生じた老化細胞から炎症性タンパク質 (サイトカインなど) の合成・分泌を主体とする細胞老化関連分泌現象 SASP へと進展していく。その結果慢性炎症が進み、炎症性疾患はじめ、動脈硬化症や神経変性疾患、糖尿病など様々な加齢性疾患を誘発する。改善法としての“老化細胞除去 senolysis”の薬剤が研究開発されている (順天堂大学などのグループによる薬剤の臨床試験が申請された~2024年10月10日 NHK ニュース)。“老化遅延 senostatics”という SASP 抑制による慢性炎症の抑制もあり、これも加齢性疾患の進行を抑える緩和なアンチエイジングといえる。

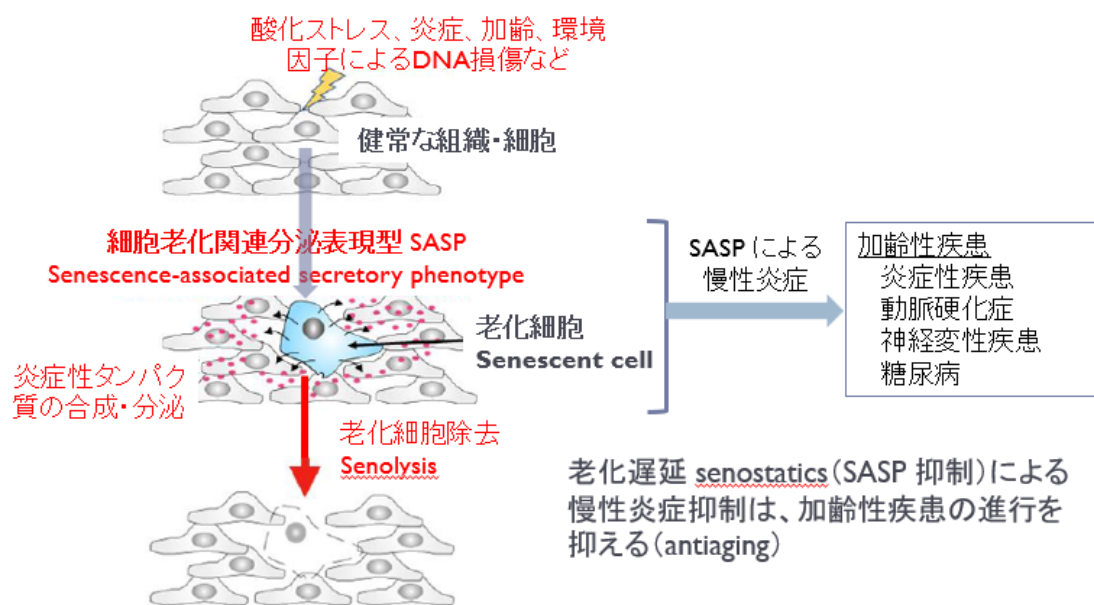


図 1 細胞老化と SASP

「老化細胞による炎症促進を担う酵素「ACLY」の発見—ACLY 阻害が加齢に伴う慢性炎症を改善する」(熊本大学 2024 年 7 月 23 日) より

またミトコンドリア機能不全はじめ遷移元素^{*4}の蓄積、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド NAD⁺の喪失、高血糖症、オートファジー不全、酸化ストレスが細胞老化/SASP を誘発し、その細胞老化/SASP は様々な代謝障害~アテローム性動脈硬化、脂肪肝、組織 NAD⁺レベル低下、高インスリン血症、インスリン抵抗性、サルコペニアやフレイルの要因にもなる (図 2)。

・ Wiley, C. D., and Campisi, J.: The metabolic roots of senescence: mechanisms and opportunities for intervention. *Nature Metabolism* **3**, 1290-1301 (2021)

*4 鉄、コバルト、ニッケルなどのように高い融点と硬さを有する金属。

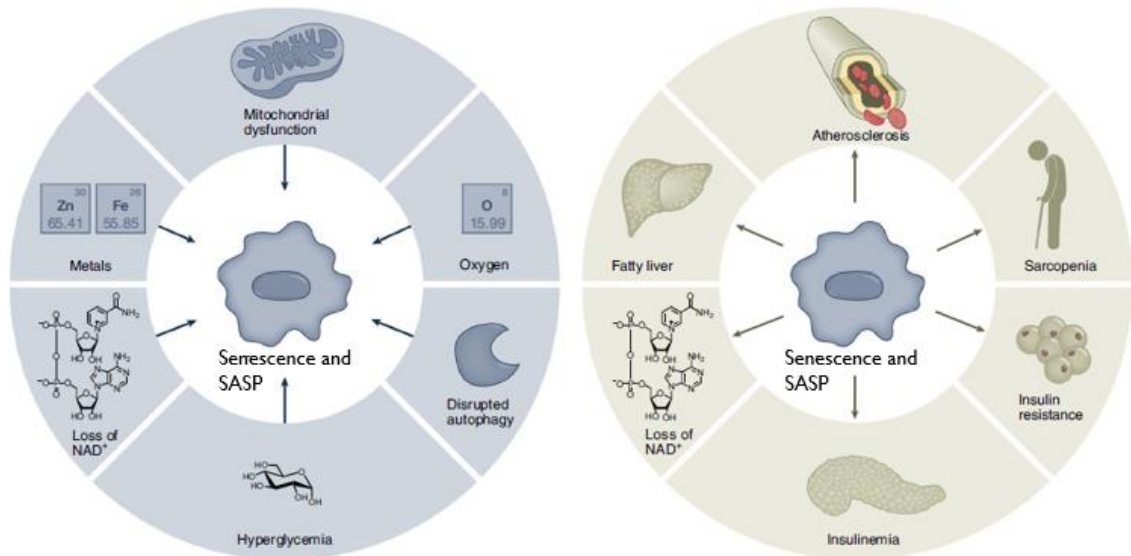


図2 細胞老化/SASP と各代謝の関係

Wiley CD & Campisi J: *Nature Metabolism* 3, 1290 (2021) より

2. RB タンパク質活性化（脱リン酸化）による SASP 抑制

RB タンパク質がリン酸化されている不活性化状態では、がん進行に伴い多様な現象を引き起こす（図3）、すなわち、脱分化～分化が進まない、分化転換～異なる系統の細胞の性質が出てくる、またゲノムの不安定性、アポトーシス、細胞周期の逸脱・増殖、がんの生存を助ける代謝プログラミング、SASP に伴う炎症性サイトカイン分泌～例えば IL-6 を含む前炎症性サイトカイン分泌などが現れる。逆に RB の活性化は転写因子 E2F との複合体を形成して、炎症性サイトカイン分泌を抑制すると考えられる。

・ Kitajima, S., and Takahashi, C.: Intersection of retinoblastoma tumor suppressor function, stem cells, metabolism, and inflammation. *Cancer Sci* 108, 1726-1731 (2017)

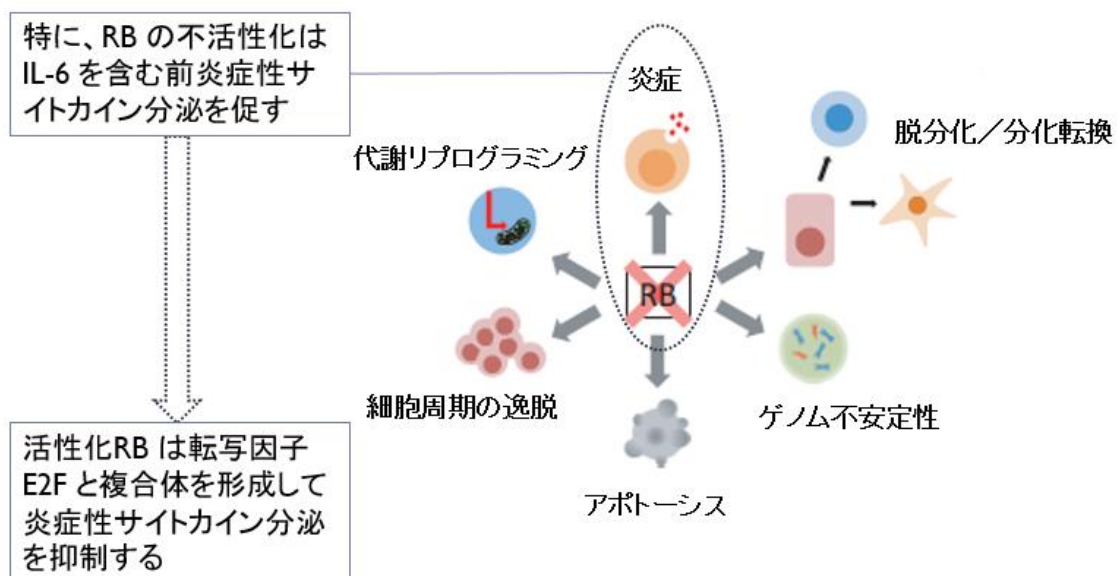


図3 RB 不活性化ががん進行に伴う多様な現象が発生する

Kitajima S & Takahashi C: *Cancer Sci* 108, 1726 (2017) より

RB タンパク質が細胞老化と細胞老化関連物質分泌現象 SASP に重要な働きがあることについては、

- Takebayashi S *et al.*: Retinoblastoma protein promotes oxidative phosphorylation through upregulation of glycolytic genes in oncogene-induced senescent cells. *Aging Cell* 14, 689 (2015)
- Narita M *et al.*: Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 113, 703 (2003).

などの報告もある。

3. カカドゥプラムによる RB 遺伝子活性化と炎症性サイトカイン産生抑制

Masuda M.らは、RB 遺伝子の活性化（RB タンパク質脱リン酸化）に伴い、ヒト大腸癌細胞株 LIM1215 細胞にカカドゥプラム kakadu plum、ザクロ pomegranate 果汁およびそのミックス果汁試料を添加することで TNF- α (10ng/mL)刺激による炎症性サイトカイン IL-6 mRNA の発現が用量依存的に減少したと報告した（図 4）。

- Masuda, M., Horinaka, M., Yasuda, S., Morita, M., Nishimoto, E., Ishikawa, H., Mutoh, M., and Sakai, T.: Discovery of cancer-preventive juices reactivating RB functions. *Environ Health Prev Med* 28, 54 (2023)

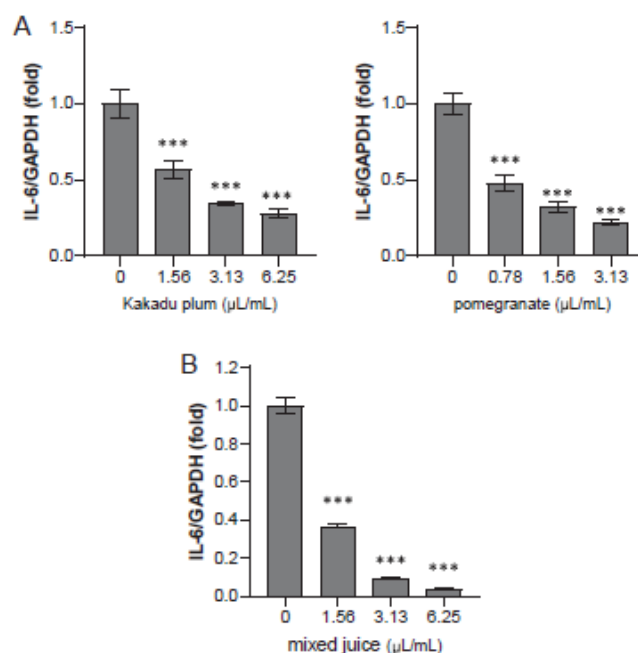


図 4 カカドゥプラムの抗炎症作用

Masuda M *et al.*: *Environ Health Prev Med* 28, 54 (2023)

また Cock, I.E.は、カカドゥプラムの水抽出物ないしメタノール抽出物が、LPS 刺激マウスマクロファージ様細胞株 RAW264.7 培養細胞からの炎症性サイトカイン IL-10, IFN- γ , IL-1 β , IL-6, MCP-1, TNF- α 分泌を顕著に抑制することを報告した (図5)。これには転写因子 NF- κ B の抑制が関わるとしているが、上記の RB タンパク質との関連をサポートするものと考えられる。

・ Cock, I. E.: *Terminalia ferdinandiana* Exell. extracts reduce pro-inflammatory cytokine and PGE2 secretion, decrease COX-2 expression and down-regulate cytosolic NF- κ B levels. *Inflammopharmacology* **32**, 1839-1853 (2024)

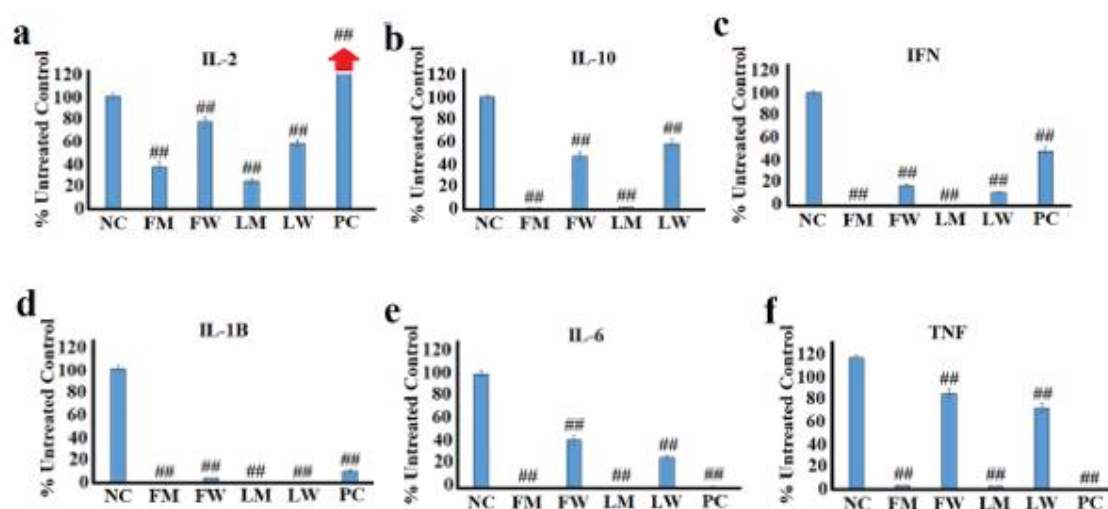


図5 カカドゥプラムによる炎症性サイトカイン産生の抑制

NC: 試料非添加 陰性対照、F: *T. ferdinandiana* 果実、L: *T. ferdinandiana* 葉、

M: メタノール抽出物、W: 水抽出物、#: p<0.01, ##: p<0.005 NC との比較

Cock IE: *Inflammopharmacology* **32**, 1839 (2024)

図6に示すように、① キナーゼ阻害因子 p21, p16 の作用によりサイクリン D/CDK4、CDK6 が抑えられ RB が脱リン酸化された状態では E2F は結合したままで転写因子として働かず、細胞周期を停止させてがん抑制にはたらく。これはいわば細胞老化になる。一方、② 健常細胞がテロメア短小化や炎症、ROS 活性酸素種、がん化刺激などで DNA damage を受け p53 がリン酸化されると DNA 修復が抑えられて老化細胞の誘導とともに SASP 放出、サイトカイン分泌が起きる。またリン酸化された p53 の影響を受けて p21 が働かず CDK2/サイクリン E によって RB タンパク質がリン酸化されると、E2F 転写因子が離れて転写が進み、細胞増殖～がん細胞増殖へと進展する。

・ Shreeya, T. *et al.*: A DNA damage response and its role in aging and Neurodegenerative Diseases. *Front Aging* **4**, 1292053 (2024)

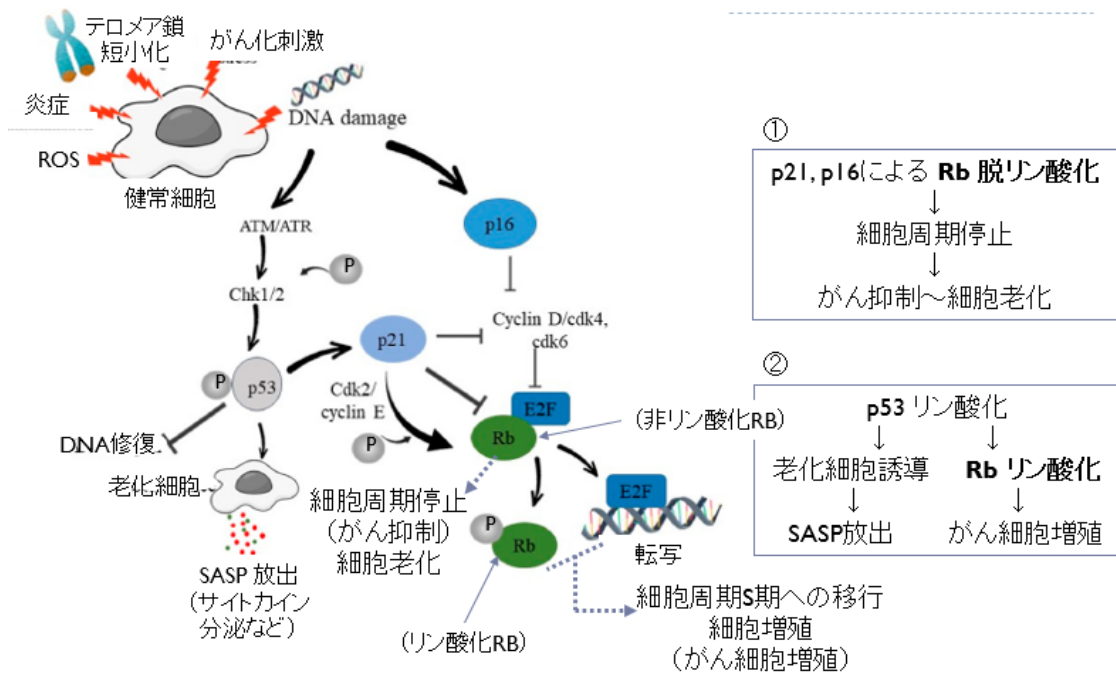


図6 RB と細胞周期停止、細胞老化/SASP との関連
 Shreeya T *et al.*: *Front Aging* 4, 1292053 (2024) より

すなわち、RB タンパク質の不活性化（リン酸化型）では、がん細胞増殖の移行とともに、老化細胞ないし SASP とそれともなう炎症性サイトカイン分泌が誘導される。一方、RB タンパク質の活性化（脱リン酸化型）は、細胞増殖周期を停止させてがん抑制にはたらく（いわば細胞老化の方向ともいえる）と同時に SASP 抑制にもはたらく。

このように、RB タンパク質を活性化させるカカドゥプラムは、同時に SASP 強いては慢性炎症を抑え、結果として加齢性疾患としての炎症性疾患、動脈硬化症、神経変性疾患、糖尿病などの抑制、予防・改善にはたらくと考えることができる

京都府立医科大学 酒井敏行特任教授からの私信によると、

① “よく勘違いされるのは、SASP の状態の時に RB は活性化型なので、RB が SASP を起こしていると思う方がおられるようですが、RB は炎症を阻害するので SASP も阻害する方に働くという報告があります。

RB は細胞老化を起こして発がんを抑制しますが、細胞老化と個体老化は異なり、個体にとっては悪い状態ではありません。”

② “カカドゥプラムは RB を活性化して細胞老化を進めますが、これは個体にとっては、がんのほか多くの疾患を予防できる状態であり、好ましい状態と考えられます。美容に関しましては、カカドゥプラムは強い抗酸化作用と抗炎症作用があるので、プラスに働くと考えています。”

とあり、非常に参考になる。

4. Masuda, M., Horinaka, M., Yasuda, S., Morita, M., Nishimoto, E., Ishikawa, H., Mutoh, M., and Sakai, T.: Discovery of cancer-preventive juices reactivating RB functions. *Environ Health Prev Med* **28**, 54 (2023)

Discussion (p. 8) から :

RB タンパクは、がん抑制に加えて、アテローム性動脈硬化の異常、虚血性心疾患、炎症、アルツハイマー病やパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) といった神経変性傷害、さらに脳卒中に対して抑制的に働くことが報告されている。それ故、RB 再活性化物質は、これらに対して予防的に働く。

① アテローム性動脈硬化症に対するはたらき :

46. Boesten LS, Zadelaar AS, van Nieuwkoop A, Hu L, Jonkers J, van de Water B, Gijbels MJ, *et al.*: Macrophage retinoblastoma deficiency leads to enhanced atherosclerosis development in ApoE-deficient mice. *FASEB J.* 2006; **20**: 953–5.

(マクロファージ RB 欠損は ApoE-欠損マウスでのアテローム性動脈硬化症発症を促進する。 *FASEB J.* 2006; **20**: 953–5.)

本研究は、マクロファージ RB がマクロファージ増殖を抑えることによるアテローム性動脈硬化症発症の抑制因子となることを示している。

② 虚血性心疾患 (虚血再灌流傷害、心筋梗塞) :

48. Liem DA, Zhao P, Angelis E, Chan SS, Zhang J, Wang G, *et al.*: Cyclin-dependent kinase 2 signaling regulates myocardial ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol.* 2008; **45**: 610–6.

(Cyclin-dependent kinase 2 シグナル伝達は虚血性心疾患/再灌流傷害を調節する。 *J Mol Cell Cardiol.* 2008; **45**: 610–6.)

Rb が Cdk2 介在性の虚血/再灌流 (I/R) 傷害の本質的なターゲットになることを明らかにすることを目的として、心特異的 Rb 欠損マウス (CRb^{L/L}) における I/R 傷害を検討した。梗塞壊死サイズ(IFS)は、Rb 正常対照マウス CRb^{+/+} に比較して Rb 欠損マウス (CRb^{L/L}) で 140% 増加した。心臓での Rb 欠損は有意に I/R 傷害を悪化する。これらの結果は、Cdk2 シグナル伝達経路が心臓 I/R 傷害における重要な制御因子であり、かつ Rb の心疾患保護を支えていることを示唆している。

③ 脳卒中障害軽減

53. Osuga H, Osuga S, Wang F, Fetni R, Hogan MJ, Slack RS, *et al.*: Cyclin-dependent kinases as a therapeutic target for stroke. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; **97**: 10254–9.

(脳卒中の治療ターゲットとしての Cyclin 依存性キナーゼ。 *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000; **97**: 10254–9.)

分裂終了後培養神経では、Cyclin 依存性キナーゼ (CDK) は細胞分裂というより細胞死のシグナルとなる。成人での巣状脳卒中で CDK 活性化が生じるか、また再灌流傷害後の神経細胞死にこのシグナルが必要かについて検討した。脳卒中後 Cdk4/cyclin D1 値およ

びリン酸化 Rb タンパク (pRb)が上昇した。また pRb を制御する転写因子 E2F1 の脱制御もみられた。これに対して CDK 阻害剤の投与は、pRb リン酸化を阻止し E2F1 レベルを上昇させて神経細胞死を 80%程度減少させた。これらは、虚血後再灌流傷害の治療として CDKs が重要な治療ターゲットとなることを示している。

④ アルツハイマー病 (AD) および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) :

54. Ranganathan S, Scudiere S, Bowser R.: Hyperphosphorylation of the retinoblastoma gene product and altered subcellular distribution of E2F-1 during Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *J Alzheimers Dis.* 2001; **3**: 377-85.

(アルツハイマー病 (AD) および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) における Rb タンパクの過リン酸化と E2F-1 の細胞内分布変化. *J Alzheimers Dis.* 2001; **3**: 377-85.)

アルツハイマー病 (AD) および筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者では Rb タンパクの過リン酸化が上昇しているとともに、神経細胞細胞質での E2F-1 の増加が観察された。

⑤ パーキンソン病 (PD) :

57. Jordan-Sciutto KL, Dorsey R, Chalovich EM, Hammond RR, Achim CL.: Expression patterns of retinoblastoma protein in Parkinson disease. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003; **62**: 68-74.

(パーキンソン病 (PD) における Rb タンパクの表現パターン. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003; **62**: 68-74.)

β -amyloid 処置したラット大脳皮質において Rb タンパク質増加に伴い神経細胞死が観察されたとの先行研究がある。本論文において免疫組織化学的実験により、PD 患者の特に中脳黒質や海馬での Rb タンパク質および過リン酸化 Rb タンパク質の強い発現が観察された。