

# 慢性骨髄性白血病細胞の新たな細胞生存・増殖メカニズムを解明

～骨髄性白血病に対する新たな治療薬開発への応用に期待～

## ポイント

- ・ STAP-1 は BCR-ABL タンパク質を安定化し、細胞増殖、生存関連遺伝子発現を調節。
- ・ STAP-1 のヒト慢性骨髄性白血病株での発現は Ca<sup>2+</sup>/転写因子 NFAT によって制御。
- ・ STAP-1 を標的としたヒト慢性骨髄性白血病に対する新しい抗がん剤開発が期待。

## 概要

北海道大学大学院薬学研究院の松田 正教授らの研究グループは、慢性骨髄性白血病 (CML:Chronic myelogenous leukemia) 細胞中のがん遺伝子産物 BCR-ABL 融合タンパク質にアダプタータンパク質 Signal-transducing adaptor protein-1(STAP-1)が及ぼす影響や、CML 細胞で STAP-1 が高発現する理由を解析しました。

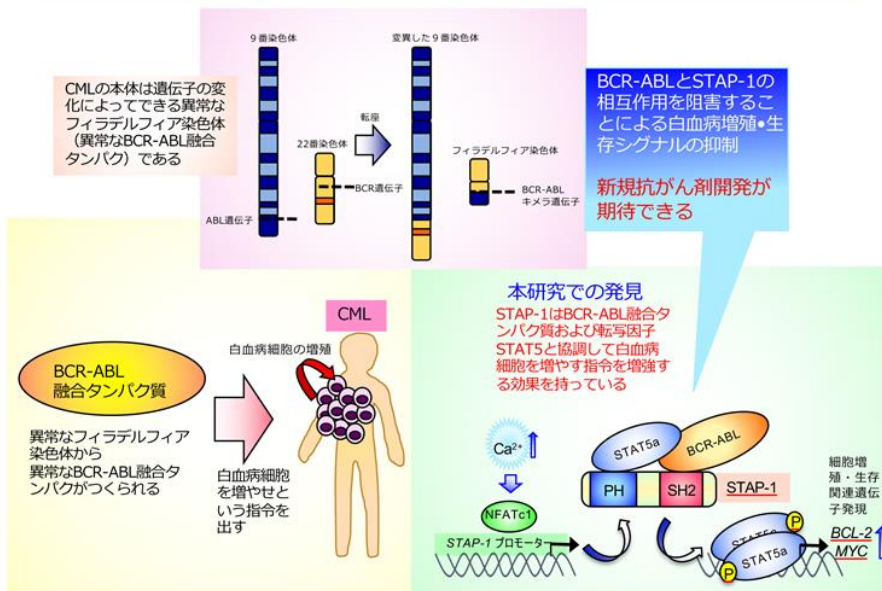
CML は血液がんのひとつで、フィラデルフィア染色体という特殊な染色体異常により新たに産生される異常な BCR-ABL 融合タンパク質が原因で発症することが知られています。本研究では、CML がん細胞において STAP-1 がどのように BCR-ABL 融合タンパク質と関連するかを明らかにしました。

STAP-1 は BCR-ABL 融合タンパク質と直接結合することで、その蛋白安定化に寄与します。また、STAP-1 は BCR-ABL 及び転写因子 STAT5 と複合体を形成することで細胞増殖や細胞生存を促進します。

一方、CML 細胞では STAP-1 が高発現しており、その理由として、STAP-1 発現が Ca<sup>2+</sup>シグナルや転写因子 NFAT によって増強されることもわかりました。STAP-1 タンパク質による BCR-ABL 融合タンパク質の安定化調節や発現の分子機序の詳細を解明できれば、CML の新しい抗がん剤開発に繋がると考えられます。

なお、本研究成果は 2021 年 4 月 9 日 (金) 公開の *Biochemical and Biophysical Research Communications* 誌に掲載されました。

### STAP-1は新規慢性骨髄性白血病(CML)治療薬候補として期待できる



ヒト慢性骨髄性白血病治療における新たな治療戦略への展望

## 【背景】

細胞の増殖分化は種々の信号分子の緻密な相互作用のもとに成り立っています。細胞の増殖分化メカニズムの異常は、細胞のがん化につながることで知られています。血液がんである慢性骨髄性白血病（Chronic myelogenous leukemia : CML）では、遺伝子の変化による異常な白血病細胞の増殖によって病気が起こります。この病気の本体は第9番と第22番染色体の相互転座 t(9;22) により生じたフィラデルフィア（Ph）染色体が原因となります（図1）。Ph染色体上でもともと9番染色体長腕上に存在した ABL 遺伝子が22番染色体上の BCR 遺伝子の下流に連結されて BCR-ABL 融合遺伝子が形成され、CML細胞に特異的な BCR-ABL 融合タンパク質が作られます。BCR-ABL 融合タンパク質は、恒常的に強いチロシンキナーゼ酵素活性を有し、白血病細胞の増殖を促進するとともに、白血病細胞のアポトーシスと呼ばれる細胞死にも抑制的に働きます。CML の患者さんに対する抗がん剤として BCR-ABL チロシンキナーゼ酵素活性阻害剤であるイマチニブが知られていますが、イマチニブ治療を少なくとも2年間以上継続できた患者さんにおいても、イマチニブの服用を中止後1年以内に約60%の患者さんで再発が認められることも報告されており、より有効な抗がん剤の開発が待たれています。

研究グループは細胞内シグナル伝達においてキナーゼなどの酵素群や転写因子の活性化を制御するアダプター分子の一つである STAP-2 の働きについて研究してきましたが、これまで本研究では STAP-2 タンパク質が CML の本体である BCR-ABL 融合タンパク質と相互作用し、CML細胞の細胞増殖や腫瘍形成に重要であることを報告してきました(参考論文1)。また、最近 STAP-2 のファミリータンパク質である STAP-1 が CML 患者さんの骨髄中の CML がん幹細胞で高発現しており、BCR-ABL 融合タンパク質や転写因子 STAT5 と相互作用し、CML がん幹細胞の生存に寄与することも明らかになってきました(参考論文2)。本研究では STAP-1 発現が CML がん細胞でどのように起こるか、また STAP-1 が BCR-ABL や STAT5 とどのように相互作用するかを検討しました。

## 【研究手法】

ヒト KU812 CML 株において shRNA 遺伝子ノックダウン<sup>\*1</sup>により、内因性 STAP-1 発現を低下させたヒト CML 株を作成し、BCR-ABL 融合タンパク質の安定化や細胞増殖や生存関連遺伝子群の発現への STAP-2 の影響を検討しました。また、STAP-1 遺伝子プロモーター領域に結合する転写因子群を解析するため、STAP-1 遺伝子プロモーター領域結合レポーター遺伝子(STAP-1-LUC)を用いて種々の転写因子の STAP-1 遺伝子プロモーター活性化能を検討しました。また、STAP-1 遺伝子プロモーターを活性化する転写因子をヒト KU812 CML 株において siRNA 遺伝子ノックダウンにより、内因性 STAP-1 発現への影響を検討しました。さらに、当該転写因子活性化シグナルによる内因性 STAP-1 発現への影響を検討しました。

## 【研究成果】

CML 細胞における STAP-1 タンパク質の働きを証明するために、STAP-1 タンパク質と CML の本体として知られる BCR-ABL 融合タンパク質及び転写因子 STAT5 との相互作用の詳細を STAP-1 の欠損変異体タンパク質を用いて検討したところ、STAP-1 は BCR-ABL とその SH2 ドメインと、STAT5 とはその PH ドメインを介して結合することがわかりました。また、STAP-1 存在下で BCR-ABL と STAT5 が効率よく会合することもわかりました。ヒト KU812 CML 株において遺伝子ノックダウンにより、STAP-1 発現を抑制することにより、転写因子 STAT5 の活性化や、その下流の細胞増殖・生存関連遺伝子群の発現低下が観察されました。さらにシクロヘキシミドチェイス実験<sup>\*2</sup>により、

STAP-1 遺伝子ノックダウンは内因性 BCR-ABL 融合タンパク質量を低下させました。そのため、STAP-1 は CML 細胞内の BCR-ABL 融合タンパク質量を安定化させることにより、CML 細胞の増殖・生存に関与することがわかりました。さらに、STAP-1 遺伝子プロモーター領域結合レポーター遺伝子(STAP-1-LUC)を用いて種々の転写因子の STAP-1 遺伝子プロモーター活性化能を検討したところ、STAP-1 遺伝子プロモーターを活性化する転写因子 NFAT を同定しました。さらにヒト KU812 CML 株において NFAT を siRNA 遺伝子ノックダウンすることにより、内因性 STAP-1 発現の低下が観察されました。さらに、NFAT を活性化する Ca<sup>2+</sup>シグナル (Ca<sup>2+</sup>イオノフォア処理) より内因性 STAP-1 発現が誘導され、NFAT 活性化を阻害するサイクロスポリン A 処理により低下し、CML 細胞における STAP-1 発現には Ca<sup>2+</sup>/NFAT シグナルが重要であることがわかりました。

### 【今後への期待】

以上の結果から、STAP-1 タンパク質は CML 患者さんのための新しい抗がん剤開発の重要な標的であり、さらに、STAP-1 発現が個々の CML 患者さんの予後因子となり得ると思われれます。また、STAP-1 タンパク質を標的とした分子標的治療薬は既存の CML 治療薬との併用により、CML 治癒を目指す有力な武器になり得ると考えられます。

### 論文情報

論文名	Positive interactions between STAP-1 and BCR-ABL influence chronic myeloid leukemia cell proliferation and survival (STAP-1 と BCR-ABL の相互作用は慢性骨髄腫細胞の増殖/生存に寄与する)
著者名	石浦まりえ <sup>1</sup> , 鍛代悠一 <sup>1</sup> , 柏倉淳一 <sup>1</sup> , 室本竜太 <sup>1</sup> , 戸田 淳 <sup>2</sup> , 一井倫子 <sup>2</sup> , 織谷健司 <sup>3</sup> , 松田 正 <sup>1</sup> ( <sup>1</sup> 北海道大学大学院薬学研究院, <sup>2</sup> 大阪大学大学院医学系研究科, <sup>3</sup> 国際医療福祉大学医学部)
雑誌名	<i>Biochemical and Biophysical Research Communications</i> (生物学系の専門誌)
DOI	10.1016/j.bbrc.2021.03.162
公表日	2021年4月9日(金)(オンライン公開)

### お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつただだし)

T E L 011-706-3243 F A X 011-706-4990 メール tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

### 配信元

北海道大学総務企画部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

## 【参考図】

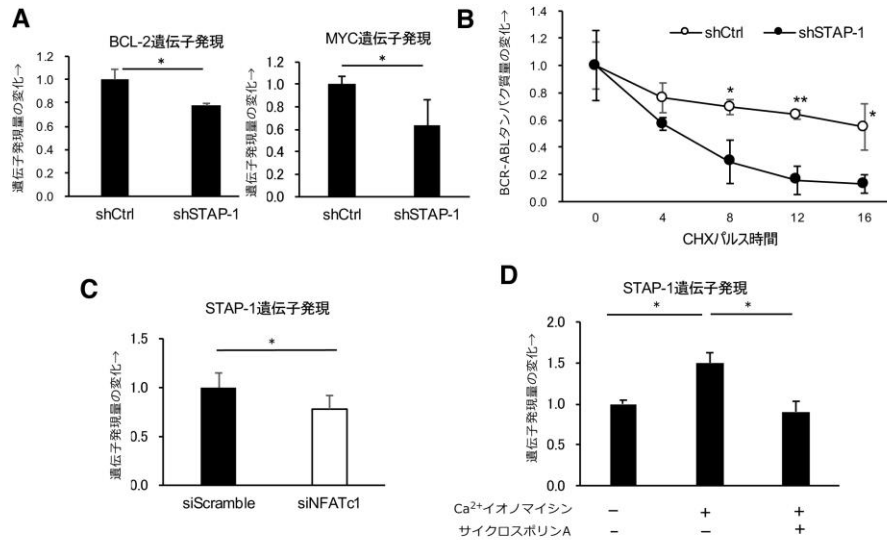


図 1. ヒト慢性骨髄性白血病株における STAP-1 ノックダウンの影響。

- (A) ヒト KU812 CML 株における STAP-1 遺伝子ノックダウン(shSTAP-1)での STAT5 依存的な細胞増殖・生存関連遺伝子群の発現低下。
- (B) ヒト KU812 CML 株における STAP-1 遺伝子ノックダウン(shSTAP-1)及びシクロヘキシミド処理での BCR-ABL 融合タンパク質量の低下。
- (C) ヒト KU812 CML 株における NFAT 遺伝子ノックダウン(siNFATc1)での 内因性 STAP-1 発現の低下。
- (D) ヒト KU812 CML 株における Ca<sup>2+</sup>イオノフォア処理あるいはサイクロスポリン A 処理の STAP-1 発現への影響。

## 【用語解説】

- \*1 ノックダウン … 特定の遺伝子の発現だけを抑制する操作のこと。遺伝子そのものを破壊する。遺伝子ノックアウト（遺伝子欠損）とは異なり、遺伝子の発現量を大きく減弱させ、それに伴い当該タンパク質の発現も低下するが、完全には失わせない。本研究では、siRNA または shRNA と呼ばれる RNA を用いて遺伝子をノックダウンしている。
- \*2 シクロヘキシミドチェイス実験 … シクロヘキシミドは真核生物のタンパク質合成の阻害剤であり、タンパク質の半減期を測定する実験のツールとして利用される。細胞をシクロヘキシミドで処理し、タンパク質量の経時変化をウェスタンブロッティングで解析することで、タンパク質の半減期を調べることができる。

## 【参考論文】

1. Sekine Y, Ikeda O, Mizushima A, Ueno Y, Muromoto R, Yoshimura A, Kanakura Y, Oritani K, Matsuda T. STAP-2 interacts with and modulates BCR-ABL-mediated tumorigenesis. *Oncogene* 2012; 31:4384-4396 [PMID: 22231445 DOI: 10.1038/onc.2011.604]
2. Toda J, Ichii M, Oritani K, Shibayama H, Tanimura A, Saito H, Yokota T, Motooka D, Okuzaki D, Kitai Y, Muromoto R, Kashiwakura JI, Matsuda T, Hosen N, Kanakura Y. Signal-transducing adapter protein-1 is required for maintenance of leukemic stem cells in CML. *Oncogene* 2020; 39: 5601-5615 [PMID: 32661325 DOI: 10.1038/s41388-020-01387-9]