



## がん・免疫応答を調節する新たな生理活性分子を同定

### 研究成果のポイント

- ・ がん・免疫応答の司令塔分子である STAT3 の新規結合蛋白として低分子量 G 蛋白 ARL3 を同定した。
- ・ ARL3 発現を抑制すると STAT3 活性化に重要なリン酸化修飾や核への蓄積が抑制される。
- ・ ARL3 発現を抑制すると STAT3 依存的な遺伝子発現や細胞増殖が抑制される。
- ・ STAT3 と ARL3 の相互作用を標的とするがん・自己免疫疾患治療薬開発が期待できる。

### 研究成果の概要

がんや免疫応答に重要な役割を担うサイトカイン※<sup>1</sup>IL-6 の信号分子として知られる STAT3 は、炎症性免疫疾患やがん増悪化に関与するとともに自身もがん化を誘導する作用を有し、多くのがん種で STAT3 の異常な活性化が報告されています。

今回、松田教授らの研究グループは STAT3 の新たな結合蛋白として、低分子量 G 蛋白 ARF ファミリーの一つ ARL3 を同定しました。ARL3 の遺伝子発現を低下させた細胞では、STAT3 による遺伝子発現誘導作用に必要なリン酸化修飾や核への蓄積が低下しており、STAT3 依存的な遺伝子発現や細胞増殖が減弱されることもわかりました。STAT3-ARL3 相互作用を標的とする新たながん・自己免疫疾患治療薬の開発が期待できます。

本研究は、生物学分野で権威ある雑誌「The Journal of Biological Chemistry」の Papers in press で 2016 年 4 月 5 日（火）に公表されました。

### 論文発表の概要

研究論文名：A new STAT3-binding partner, ARL3, enhances the phosphorylation and nuclear accumulation of STAT3 (新規 STAT3 結合蛋白 ARL3 は STAT3 のリン酸化修飾や核への蓄積を増強する)

著者： 榎 澄仁<sup>1</sup>, 室本竜太<sup>1</sup>, 平島洗基<sup>1</sup>, 鍛代悠一<sup>1</sup>, 岡山太一郎<sup>1</sup>, 池田 収<sup>1</sup>, 松本尚樹<sup>1</sup>, 今 重之<sup>1</sup>, 関根勇一<sup>1</sup>, 織谷健司<sup>2</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)

公表雑誌：The Journal of Biological Chemistry

公表日：米国東部時間 2016 年 4 月 5 日（火）（オンライン公開）

## 研究成果の概要

### (背景)

サイトカインの信号は、細胞表面上の受容体にサイトカインが結合することにより、複数の細胞内信号伝達系が活性化されて細胞内に伝わり、遺伝子発現を誘導するための転写活性化を誘導します。特に主要なサイトカインの細胞内信号伝達系は Janus kinase (JAK) /Signal Transducer and Activator of Transcription (STAT) 信号伝達系と呼ばれており、サイトカインの受容体結合後、受容体に恒常的に会合する JAK ファミリーチロシンキナーゼが活性化し、その主要基質である転写因子 STAT 蛋白をチロシンリン酸化し、リン酸化された STAT 蛋白は核に移行し、細胞の増殖や分化、生存に重要な標的遺伝子の転写活性化を誘導します (図 1)。

免疫系において、B 細胞に作用して抗体産生を誘導する T 細胞由来のサイトカインとして、遺伝子クローニングされたインターロイキン 6 (IL-6) は免疫系のみならず多種多彩な生理活性を示します (図 2)。また、炎症性自己免疫疾患やがんの増悪化に関与することも知られています。さらに IL-6 を中心とする IL-6 ファミリーサイトカインの作用は、主に信号伝達分子である転写因子 STAT3 によるものであることが明らかにされています。特に STAT 蛋白ファミリーのなかで STAT3 は、その遺伝子欠損マウスが胎生致死であることから、生存に必須であることが示されており、さらに STAT3 の活性化は種々の下流信号分子群の活性化を引き起こし、がんの増悪化に関与することも示され、STAT3 自身が発がん作用を有することも注目されています (図 2)。STAT3 の活性化は他の STAT 蛋白ファミリー同様にリン酸化、核内移行、核内への蓄積、DNA への結合等、種々のステップで制御を受けており、その制御の破綻はがんや自己免疫疾患など病気の発症につながります。そのため、IL-6/STAT3 の信号伝達系の活性化制御機構の解明は、がんや自己免疫疾患の治療薬開発に向けて、重要な手掛かりになると考えられます。

細胞外の神経伝達物質やホルモンはそのレセプターを介して信号を細胞内へ伝えますが、その際、レセプター結合する三量体 G 蛋白 (分子量 100kDa の複合体) が、グアノシン 3 リン酸 (GTP) をグアノシン 2 リン酸 (GDP) へと変換し、信号スイッチとして働くことが知られています。がん遺伝子として知られる RAS などが属する分子量 20-30kDa のサブユニット構造を持たない GTP 結合蛋白を低分子量 G 蛋白と呼び、酵母からヒトまでの真核生物に存在しており、主に 5 つのファミリー (RAS, RHO, RAN, RAB, ARF) に分類されます。三量体 G 蛋白同様に低分子量 G 蛋白も GDP 結合型から GTP 結合型への転換により活性型となり、特異的な標的分子に結合して細胞内信号を伝達する信号スイッチとして働き、細胞の増殖、分化、遺伝子発現、細胞運動などの様々な細胞機能を制御しています。

本研究では、STAT3 の新たな結合蛋白として低分子量 G 蛋白 ARF ファミリーの一つ ARL3 を同定しました。さらに ARL3 の遺伝子発現を低下させることにより STAT3-ARL3 の新たな機能的相互作用の存在を検討しました。

### (研究成果)

酵母ツーハイブリッド法<sup>※2</sup>により新規 STAT3 結合タンパク質として ARL3 を同定し、ヒト胎生腎がん細胞 293T 細胞内でも両者が結合することを確認しました。また、IL-6 ファミリーサイトカイン処理での STAT3 活性化によって両者の結合は増強されました。さらに、IL-6 ファミリーサイトカイン処理により ARL3 の酵素活性が増強されることや、活性型 ARL3 変異体が STAT3 と強く結合し、STAT3 活性化を増強することもわかりました。ヒト子宮頸癌細胞株 HeLa 細胞を IL-6 ファミリーサイトカイン処理すると STAT3 のリン酸化や活性化、STAT3 依存性の遺伝子発現が観察されます。その際の ARL3 の

関与を調べるため、内在性 ARL3 発現を低下させた HeLa 細胞を用いて検討したところ、IL-6 誘導性の STAT3 のリン酸化や活性化、STAT3 依存性の遺伝子発現が低下しました。さらに ARL3 の STAT3 依存性の細胞増殖や細胞運動への影響を検討するために、遺伝子ノックダウンにより内在性 ARL3 発現を低下させた BaF-G133 細胞や HeLa 細胞を用いて検討したところ、STAT3 依存性の細胞増殖や細胞運動が低下しました。最後に、STAT3 機能発現に重要な STAT3 の核内への蓄積に ARL3 が関与するかを内在性 ARL3 発現を低下させた HeLa 細胞を用いて、IL-6 ファミリーサイトカイン処理での STAT3 の核内貯留を検討したところ、STAT3 の核内貯留の低下が観察されました。また、興味深いことに活性型 ARL3 変異体発現が STAT3 の核内貯留を誘導することも明らかになりました（図 1）。以上のことから ARL3 は STAT3 に結合し、STAT3 のリン酸化や核への蓄積を調節し、STAT3 依存的な遺伝子発現や細胞増殖を制御する生理活性分子であることがわかりました。

#### （今後への期待）

がんや自己免疫疾患をはじめとする多種多様な病気への関与が示されている STAT3 を標的とした治療薬の開発を行う際に、STAT3-ARL3 の相互作用は新規の重要な標的となり得ると考えられます。

#### お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正（まつだ ただし）

TEL: 011-706-3243 FAX: 011-706-4990 E-mail: tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp

ホームページ: <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

#### [用語説明]

1. サイトカイン：細胞の増殖、分化、生存や細胞機能の発現、停止は周囲の細胞により厳密に制御され、その結果、正常な発生や生体の恒常性が維持されている。このような細胞間情報伝達は細胞の産生する可溶性蛋白を介して行われており、この細胞間情報伝達分子の一つがサイトカインである。サイトカインは細胞表面でレセプターに結合することにより作用する。サイトカインの産生異常はがんや自己免疫疾患の発症にも関与しており、サイトカイン IL-6 のレセプターへの結合を阻害する抗体医薬アクテムラは関節リウマチ治療薬としても知られている。

2. 酵母ツーハイブリッド法：細胞内におけるタンパク質 - タンパク質相互作用を調べる手法の一つ。酵母細胞を使用する系として開発された方法。

【参考図】

