

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和3年4月16日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 京都府立医科大学
職 名 助教
研究代表者 奥田恵子

下記のとおり令和2年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:19009)

1. 共同研究課題名	ARG チロシンキナーゼによる白血病発症機構の解明			
2. 共同研究目的	活性型 ARG チロシンキナーゼ特異的に結合する細胞内蛋白を同定し、白血病発症における役割を明らかにする。この研究成果は、白血病治療における新しい分子標的の同定に繋がる可能性がある。			
3. 共同研究期間	令和2年4月1日 ~ 令和3年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 奥田 恵子	医学研究科 分子診断・治療医学	助教	細胞実験の実施・解析、および研究総括	
(分担研究者)				
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	遺伝子情報分野	氏 名	小田 司

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

- 前年度の共同研究で、ヒト白血病細胞株において、STAT3 が ARG チロシンキナーゼに結合し、ARG と非常にホモロジーの高い ABL チロシンキナーゼには結合しないことを明らかにした。そこで、STAT3 と結合できない ARG 変異体を作製し、ヒト、あるいはマウス血液細胞株に導入して発がん能の有無を解析する。また、STAT3 阻害剤を用いて、恒常的活性型 ARG による発がん機構における STAT3 の役割を明らかにする。
- 酵母ツーハイブリッドスクリーニングシステムを用いて、STAT3 以外の活性型 ARG 結合蛋白を同定する。
- 同定された蛋白と結合できない ARG 変異体を作製し、それをヒト、あるいはマウス血液細胞株に導入して発がん能の有無を解析する。
- 小田博士らは、ドキシサイクリンによる shRNA 発現誘導系を確立している。これを血液細胞株に導入し、上記で同定された蛋白を含む種々の細胞内蛋白を抑制させ、構成的活性型 ARG による発がん誘導に必要な分子を明らかにする。

7. 共同研究の成果

- ARG 変異体の作製と解析
STAT3 の SH2 domain が結合する ARG のリン酸化チロシンを同定するため、結合領域に存在するチロシンをフェニルアラニンに置き換えた変異体を 13 種類作製した。これらの ARG 変異体と STAT3 との結合を酵母ツーハイブリッドシステムで解析すると、ARG の 299 番目、303 番目のチロシン残基が STAT3 との結合に重要であることが示唆された。
- STAT3 結合における ARG と ABL の SH2 domain の作用
ABL チロシンキナーゼは STAT3 と結合しないが、ARG の SH2 domain と入れ替えた ABL は STAT3 と結合した。ARG の SH2 domain が、ABL の SH2 domain よりも強いアフィニティーで、STAT3 のリン酸化チロシンに結合することが示唆された。一方、ABL の SH2 domain と入れ替えた ARG では STAT3 との結合が消失した。ABL SH2 domain が、STAT3 の SH2 domain よりも強いアフィニティーで、ARG のリン酸化チロシンに結合し、STAT3 の結合を阻害する可能性が考えられた。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換（本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。）

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

なし

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ARG 変異体の作製部位についての検討
- ARG、および ABL の SH2 domain, kinase domain の STAT3 結合における作用機序の考察
- IL3 依存性マウス血液細胞株を用いた ARG-STAT3 結合の解析方法についての検討