
分子シャペロンによる慢性骨髄性白血病
原因遺伝子産物 (BCR/ABL) の分解制御

16590207

平成16年度～平成18年度科学研究費補助金
(基盤研究 (C)) 研究成果報告書



平成19年4月

研究代表者 塚原富士子

東京女子医科大学 医学部講師



〈はしがき〉

BCR/ABL 遺伝子は、慢性骨髄性白血病の 95%以上の患者に認められる 9 番染色体長腕と 22 番染色体長腕の相互転座の結果生ずる遺伝子である。BCR/ABL 遺伝子産物は、強力なチロシンキナーゼ活性を持ち、細胞の増殖を促進、アポトーシスを抑制する。

近年、BCR-ABL 分子標的薬であるイマチニブ、耐性機序の一つとして、BCR-ABL 蛋白質の発現増加が指摘されているが、これに対して、BCR-ABL 蛋白分解促進作用を有する Hsp90 阻害薬の開発が注目されている。しかし、BCR-ABL 蛋白の安定化および分解機序についての詳細は、まだ明らかにされていない。本研究では、分子シャペロンによる BCR-ABL タンパク質の分解制御機構について詳細な検討を行った。

研究組織

研究代表者：塚原富士子（東京女子医科大学医学部講師）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	1,800,000	0	1,800,000
平成17年度	900,000	0	900,000
平成18年度	900,000	0	900,000
総計	3,600,000	0	3,600,000

研究発表

(1) 学会誌等

1. Tsukahara F. and Maru Y.

Decision of stabilization or degradation of Chronic myelogenous leukemia (CML) oncoprotein, BCR-ABL, via kinase domain. *Journal of Pharmacological Sciences* 103, (Supplement I) 94P, 2007

2. Watanabe K., Fuse T., Asano I., Tsukahara F., Maru Y., Nagata K., Kitazato K. and Kobayashi N.

Identification of Hsc70 as an influenza virus matrix protein (M1) binding factor involved in the virus lifecycle. *FEBS Letters* 580, 5785-5790, 2007

3. Tsukahara F. and Maru Y.

N-acetyl-cysteine enhances growth in chronic myeloid leukemia oncoprotein, BCR-ABL- transformed cells . *Journal of Pharmacological Sciences* 100 (Supplement I) 288P, 2006

4. Tsukahara F. and Maru Y.

Paradoxical reversal of Hsp90 inhibitor-induced BCR-ABL degradation by the BCR-ABL inhibitor, *Journal of Pharmacological Sciences* 94 (Supplement I) 105P, 2005

5. Zhang Q. , Tsukahara F. and Maru Y

N-acetyl-cysteine enhances growth in BCR-ABL- transformed cells. *Cancer Sci.* 96 (4), 240-244 (2005)

(2) 口頭発表

1. 塚原富士子, 丸 義朗：キナーゼ領域依存性の慢性骨髄性白血病原因分子 (BCR-ABL) の安定化と分解. 第80回日本薬理学会年会 平成19年3月
2. 塚原富士子, 丸 義朗：慢性骨髄性白血病原因分子 BCR-ABL のキナーゼ領域依存性安定化と分解. 第65回日本癌学会学術総会 平成18年9月
3. 塚原富士子, 丸 義朗： N-acetyl-cysteine は、慢性骨髄性白血病発癌分子 BCR-ABL 依存性細胞増殖を促進する. 第79回日本薬理学会年会 平成18年3月
4. 塚原富士子, 丸 義朗：慢性骨髄性白血病原因分子 BCR-ABL 依存性細胞増殖を CHIP および c-Cbl は、別の蛋白分解機序で抑制する. 第64回日本癌学会学術総会 平成17年9月
5. 塚原富士子, 丸 義朗：BCR-ABL 分子標的薬は Hsp90 阻害薬による BCR-ABL 蛋白分解を逆説的に阻害する. 第78回日本薬理学会年会 平成17年3月
6. 塚原富士子, 丸 義朗：慢性骨髄性白血病発癌分子 BCR-ABL の分解機序. 第63回日本癌学会学術総会 平成16年9月

研究成果

1) BCR/ABL を基質として認識する E3 ligase の単離、同定

BCR/ABL タンパク質は、ユビキチン連結酵素である carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein (CHIP) および c-Cbl により、ユビキチン化され、プロテアソームおよびリソソーム系で分解されることを明らかにした。CHIP および c-Cbl による分解制御機構は異なり、c-Cbl は、BCR/ABL のリン酸化依存性に、一方、CHIP はタンパク質の構造異常を認識することによって、BCR-ABL の成熟型、未成熟型、リン酸化型いずれの分解にも関与することが明らかとなった。さらに CHIP および c-Cbl は、Hsp90 阻害薬による BCR/ABL の分解を増強し、Hsp90 および Hsc70 は、これらの分解系制御機構において重要な役割を持つことを明らかにした。

2) BCR/ABL 依存性細胞増殖に対する CHIP および c-Cbl の効果

BCR/ABL で形質転換した Ba/F3 細胞を用い、テトラサイクリン依存性に CHIP または c-Cbl を発現する細胞株を樹立した。BCR/ABL 依存性 Ba/F3 細胞の増殖は、CHIP および c-Cbl の過剰発現により特異的に阻害されることを明らかにした。

3) CHIP および c-Cbl による BCR/ABL の分解に必須の領域

種々の BCR/ABL 分子内領域（4量体形成領域、SH2 結合領域、SH2、SH3、キナーゼ領域等）欠失変異体を作製してタンパク質の分解を検討した。Hsp90 阻害薬、CHIP および c-Cbl による BCR/ABL の分解に必須の領域は、それぞれ異なることを明らかにした。さらにこれらの分子内領域の相互作用によるタンパク質の安定化および分解制御機構について明らかにした。

4) BCR/ABL 分子標的薬イマチニブと Hsp90 阻害薬の相互作用

BCR/ABL 分子標的薬イマチニブ耐性の原因の一つとして、BCR/ABL 発現の増加が指摘されている。BCR/ABL 変異体 (E255K、T315I) を発現する Ba/F3 細胞を作製し、タンパク質量に対する Hsp90 阻害薬、CHIP および c-Cbl の効果を明らかにした。さらに分子標的薬であるイマチニブおよび現在抗癌薬

として開発中である Hsp90 阻害薬を用い、BCR/ABL の分解および安定化における薬物相互作用について明らかにした。

5) N-acetyl-cysteine による BCR/ABL 依存性細胞増殖促進作用

N-acetyl-cysteine による BCR/ABL 依存性細胞増殖促進作用に対する Hsp90 阻害薬の拮抗作用の分子機序を明らかにした。

6) キナーゼ領域依存性の分解機序

BCR/ABL キナーゼが、恒常的に活性化することにより、その構造の変化依存性に CHIP は分解を促進、Hsc70 は安定化を促進し、一方、リン酸化依存性に Hsp90 阻害薬および c-Cbl は BCR/ABL の分解を促進することが示唆された。さらにキナーゼ依存性 BCR/ABL の安定化には、4量体の形成が関与すると考えられる（論文投稿中）。