

28PA-am042

Bis-PMB は不活性型 STAT3 二量体の形成を誘導する

○末廣 直哉¹, 小跡 竜也¹, 三好 奈央¹, 田口 今日子¹, 小郷 尚久¹, 浅井 章良¹ (静岡県大院薬)

【目的】転写制御因子 STAT3 は様々ながん種で恒常的に活性化しており、細胞増殖、血管新生、免疫寛容等に関与することから、抗がん剤開発のための標的分子として注目されている。当研究室では、STAT3 の SH2 ドメインとリン酸化ペプチドとの相互作用に着目した独自の HTS 系にて化合物ライブラリースクリーニングを実施し、STAT3 選択的阻害活性を有するビスベンゾキノロン誘導体 bis-PMB を見出した。そこで本研究では bis-PMB の詳細な作用機序解析を実施した。

【方法】子宮頸部癌由来の HeLa 細胞やその抽出液を用いることによって、bis-PMB の作用機序解析を行った。STAT3 の活性化には OSM を用いた。bis-PMB 存在下における STAT3 の変化を western blot 法、免疫染色法、レポーターアッセイにより解析した。また *in vitro* の解析には N 末ピオチンラベル化組換え STAT3 タンパク質を用いた。

【結果・考察】 Bis-PMB は HeLa 細胞内において STAT3 のリン酸化に影響せずに STAT3 の DNA 結合及び転写活性を抑制した。また免疫染色では STAT3 核内移行の阻害が見られなかったが、western blot による核内 STAT3 の解析の結果、OSM 刺激に依存して二量体および四量体に相当へのバンドシフトが検出された。これらの高分子量バンド成分は抗 STAT3 抗体によって免疫沈降が可能であり、その多量体には STAT1 と STAT5 が含まれないことが示唆された。このような多量体は精製後の野生型 STAT3 組換えタンパク質でも形成されたが、変異型 STAT3 タンパク質 (C550A) では多量体形成率の低下と、SH2 結合阻害率の低下が確認された。以上より、bis-PMB は Cys550 とのマイケル付加反応を介して、STAT3 ホモ二量体を含む不活性な STAT3 複合体の形成を誘導することが示唆された。