

# 28amA-038

合成レチノイド CD437 によるオートファジー誘導機構の検討

○坂 教加<sup>1</sup>, 土谷 博之<sup>1</sup>, 本岡 ゆり子<sup>1</sup>, 濱 進<sup>1</sup>, 小暮 健太郎<sup>1</sup>(<sup>1</sup>京都薬大)

【目的】CD437 は RAR $\gamma$  非依存的抗腫瘍作用を持つ合成レチノイドである。これまでの我々の研究で、CD437 により小胞体ストレス亢進を介した CHOP 遺伝子発現誘導や、チオレドキシシン結合タンパク質 2/ASK1 経路を介した JNK 活性化といったアポトーシス誘導経路を明らかにしてきた。しかし CD437 による抗腫瘍作用には、アポトーシス以外の細胞死誘導経路の関与も示唆されている。そこで本研究では、CD437 が卵巣癌細胞株 SKOV-3 におけるオートファジーに与える影響について検討を行った。

【方法】SKOV3 に対して CD437 は 1-4  $\mu$ M で処理を行った。mRNA およびタンパク質発現量は、定量的逆転写 PCR および Western blotting により、それぞれ検討を行った。オートライソソームの阻害剤には、20 mM NH<sub>4</sub>Cl を使用した。

【結果】CD437 は濃度依存的なオートファジーマーカー(LC3II、p62)発現誘導、オートライソソーム阻害剤添加によるオートファジーマーカー(LC3II、p62)の蓄積が見られた。また GFP-LC3 発現ベクターをトランスフェクションした SKOV3 でオートファゴソームの形成が顕微鏡観察により認められた。これにより CD437 によるオートファジー誘導が明らかになった。次に CD437 によるオートファジー誘導への DDIT4 の関与について検討したところ、CD437 により mRNA およびタンパク質レベルで DDIT4 が濃度依存的・時間依存的に発現上昇した。またこのとき S6K のリン酸化は顕著に低下していた。

【考察】今回の検討によって CD437 は、DDIT4 発現誘導によって mTORC1 を抑制し、オートファジーを誘導していることが示唆された。今後さらに CD437 の抗腫瘍効果におけるオートファジー意義について検討を進めていく予定である。