

26W-am04

新規オートファジー阻害剤としての Atg4B 阻害剤の創製

○遠藤 智史¹, 内堀 麻衣¹, 陶山 美穂¹, 馬 彪², 鎌足 雄司³, 桑田 一夫², 松永 俊之¹, 五十里 彰¹ (¹岐阜薬大, ²岐大院連創, ³岐大生命セ)

【目的】腫瘍におけるオートファジー誘導は、異常タンパク質や異常細胞小器官の蓄積、その結果生じる酸化ストレスなどを抑制することで、腫瘍悪性化や抗癌剤耐性獲得に関与するため、オートファジー阻害剤は既存抗癌剤の有効性を高める新規抗癌剤として期待されている。しかし、オートファジー阻害剤としてはリソソーム阻害剤や PI3 キナーゼ阻害剤が汎用されており、選択的にオートファジーを阻害する薬剤の開発例はほとんどない。Atg4B は LC3 の活性化を介して、オートファジー特有の現象であるオートファゴソームの形成に重要である。そこで本研究では、Atg4B を標的とした新規オートファジー阻害剤の創製研究を行った。

【方法】岐阜大学で開発された統合創薬ソフトウェア NAGARA を用いて化合物ライブラリー (20 万化合物) から Atg4B の活性部位に結合可能な化合物を探索した。Atg4B 阻害剤の一次スクリーニングには示差走査蛍光定量法 (DSF) を用い、阻害活性は *in vitro* cleavage assay にて評価した。ヒト肺癌 A549 細胞の生存率は MTT 法、オートファジーは抗 LC3 抗体を用いたイムノプロット法にて検出した。

【結果および考察】*in silico* スクリーニングと DSF 分析から Atg4B に結合可能な AUI01 と AUI17 を見出した。また、LC3 の C 末に GST を融合させた LC3-GST を用いた *in vitro* cleavage assay によって、両化合物による有意な Atg4B 阻害活性が確認された。次に、A549 細胞を用いて tamoxifen 誘導性オートファジーに対する両化合物の効果を検討した。両化合物は tamoxifen 誘導時に増加した LC3-II 量を有意に減少させ、既知のオートファジー阻害剤と同様に tamoxifen 誘導性細胞障害を増強した。以上の結果は、本研究で見出した新規 Atg4B 阻害剤がオートファジー阻害剤になることを示唆している。