
癌再発予防に向けた長鎖脂肪酸の有効性の再評価

岐阜薬科大学生命薬学大講座生化学研究室・准教授 遠藤 智史

■ 目 的

本研究の目的は「癌再発予防に向けた長鎖脂肪酸の有効性の再評価」である。癌治療におけるドコサヘキサエン酸(DHA)をはじめとする ω -3脂肪酸の摂取の有効性については長年議論の対象となっている。癌細胞、特に抗癌剤耐性癌細胞ではオートファジーが活性化していることから、オートファジーに特有の現象であるオートファゴソーム形成過程の中でも、オートファゴソーム形成に必須のAtg4BによるLC3プロセッシングに着目した。本研究では、最近、開発に成功したAtg4B阻害剤21fのファーマコフォアからAtg4B阻害活性を示す天然化合物の探索を行った。

■ 方 法

Atg4B阻害活性は、*in vitro* cleavage assayを用いて評価し、分子モデリングは結晶構造[PDB: 2Z0E]に対してMOEを用いて作成した。前立腺癌LNCaP細胞を用い、オートファジー活性はウエスタンブロット(WB)法とDAPGreenを用いた共焦点顕微鏡観察とフローサイトメトリー法を用いて、アポトーシス性細胞死は蛍光免疫染色法とWB法、ミトコンドリア機能障害はMT-1 MitoMP assay kitを用いた共焦点顕微鏡観察を用いて評価した。細胞生存率はAlamar Blueアッセイを用いて算出し、CompuSynプログラムを用いて二剤併用の相乗性を評価した。

■ 結果および考察

Atg4B阻害剤21fと類似した骨格を持つ両親媒性を示す化合物から、パルミチン酸、エイコサペンタエン酸、DHAなどの長鎖脂肪酸がAtg4B阻害活性を有することを見出した。ドッキングモデルから、最も高い阻害活性を示したDHAのカルボキシ基とAtg4BのArg229との間の水素結合がAtg4B阻害活性に重要であると推測された。これらの脂肪酸は、前立腺癌LNCaP細胞におけるアミノ酸欠損培地によるオートファジー誘導を有意に抑制した。DHAはオートファジーを20 μ Mまでの低濃度においては抑制した一方で、高濃度(50 μ M)ではmTORの抑制によりオートファジーを誘導することが示唆された。

様々な癌種において抗癌剤がオートファジーを誘導することが知られる。DHAはアビラテロンによって誘導されるオートファジーを抑制し、アポトーシスを亢進させ、相乗的に抗癌活性を増強した。次に、最近承認された前立腺癌治療薬ダロラタミド(Dar)に対する耐性を獲得したDar耐性22Rv1(22Rv1/Dar)細胞を樹立し、DHAによる耐性克服効果を検証した。22Rv1/Dar細胞は、親細胞と比べてオートファジーへの依存度が高く、DHAはオートファジー阻害を介してDarに対して耐性克服効果を示すことが明らかとなった。

■ 結 語

本研究では、最近開発したAtg4B阻害剤21fのファーマコフォアをもとにしたスクリーニングから長鎖脂肪酸がAtg4B阻害活性を有することを見出した。中でもDHAのAtg4B阻害活性が最も高く、これまでに細胞実験において抗癌活性が報告されている濃度よりも低濃度でオートファジーを阻害することが明らかとなった。また、オートファジー阻害を介して抗癌剤の感受性を増強させることで、抗がん剤耐性克服効果を示すことを明らかにした。以上、DHAの摂取が抗癌剤治療の向上に対して有効であることが示唆された。