

Clomiphenе enhances autophagic flux via inhibition of mTORC1 signaling

メタデータ	言語: English 出版者: 公開日: 2017-03-20 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 平野, 一興 メールアドレス: 所属:
URL	https://jair.repo.nii.ac.jp/records/2001973

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1804 号

Clomiphene enhances autophagic flux via inhibition of mTORC1 signaling

(クロミフェンは mTORC1 経路抑制によりオートファジーを誘導する)

平野 一興 (ひらの かずおき)

博士 (医学)

論文内容の要旨

パーキンソン病 (以下 PD) は有病率 140 人/10 万人の我が国で 2 番目に多い神経変性疾患で、加齢と共に発症率が増加する。PD の治療法は内服治療を中心とした対症療法に留まるため、超高齢社会である我が国でも患者数の増大する PD の発症予防・進行予防を実現する根本的治療が希求されている。近年蛋白分解システム“オートファジー”の生物学的意義・機序が徐々に解明され、感染症、炎症、加齢、がん、PD での重要性が認識されている。特に細胞内凝集体を伴う神経変性疾患 (PD、ハンチントン病等) でオートファジー促進作用を持つ薬物の有効性が報告され、オートファジーを標的とした創薬が新規薬理作用として期待されている。以上の背景から、我々は GFP-LC3 安定発現 HeLa 細胞を用いた 796 種の既存薬に対するスクリーニングによりオートファジー関連化合物を探索し、そのヒット化合物の一つである clomiphene がオートファジー促進作用を持つことを明らかにした。

HeLa 細胞および SH-SY5Y 細胞に clomiphene を投与することにより LC3/actin 比は濃度・時間依存的に増加し、細胞毒性を示さない濃度 (10 μ M) において十分なオートファジー誘導活性を示した。またリソソーム水解酵素阻害剤 (10 μ g/ml E64d + 10 μ g/ml pepstatin A) との共処理により LC3/actin 比がさらに増加すること、免疫染色法において clomiphene 投与群で内在性 LC3 陽性顆粒と LAMP2 陽性顆粒の共局在が増加することから、clomiphene はオートファジー促進作用を有することが確認された。さらにハンチントン病モデル細胞 (GFP でタグした CAG 異常伸長 huntingtin を一過性強制発現した細胞) において、clomiphene 処理により GFP 陽性凝集体クリアランスが上昇した。分子薬理作用としては clomiphene 処理により mTORC1 下流の p70S6K, S6 リン酸化が抑制され、mTORC1 上流の Akt リン酸化に影響なく、ERK1/2 リン酸化は軽度亢進するも ERK1/2 リン酸化阻害剤 U0126 との共処理で LC3/actin 比は変化しないことから、mTORC1 への直接的阻害作用によるものと結論した。