

**P1-15.  
Macrolide Antibiotics Exhibit Cytotoxic Effect under Amino Acid-Depleted Culture Condition via Blocking Autophagy Flux in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Cell Lines**

(耳鼻咽喉科頭頸部外科学)

○平澤 一浩、塚原 清彰

(生化学)

森谷 昇太、風間 宏美、廣田 綾子

武村 淳、阿部 晃久、平本 正樹

宮澤 啓介

(乳腺科学)

宮原 かな

(医学総合研究所)

稲津 正人

オートファジー (自食) は細胞内タンパク質のリサイクル機構で、タンパク質合成に必要とされる細胞内アミノ酸プールの維持に必須である。我々はこれまでに、マクロライド系抗菌薬である Azithromycin (AZM)、Clarithromycin (CAM) がオートファジー阻害活性を持ち、Gefitinib、Bortezomib 等の分子標的薬剤との併用により種々の癌細胞のアポトーシス誘導を増強することを報告してきた。オートファジーの本質的役割はアミノ酸プールの維持であり、特に飢餓状態においては必要度が高まる。癌細胞はその増殖速度ゆえに正常細胞よりアミノ酸需要が高いが、中でも頭頸部癌を含む固形腫瘍では、中心部が常に乏血・乏栄養状態に曝されており、オートファジーへの依存度も高い。

アミノ酸飢餓培地で AZM、CAM を頭頸部癌細胞株 CAL27、Detroit562 に添加したところ、著明な殺細胞効果が発揮された。一方、通常の培養条件下では抗腫瘍効果は発揮されなかった。また、アミノ酸飢餓状態で CAL27 細胞に AZM/CAM を添加すると、アポトーシスと小胞体ストレス性転写因子 CHOP (GADD153) の強力な誘導も観察された。CAL27 細胞で CHOP knockdown により細胞死は有意に減弱し、CHOP<sup>-/-</sup>MEF においても CHOP<sup>+/+</sup>MEF に比べて細胞死が抑制された。Atg5 tet-off m5-7 株を用いて、アミノ酸飢餓条件下で atg5 knockout によりオートファジーを完全阻害した場合にも、CHOP の誘導と連動して細胞死が増強し

た。また、これらの系にアミノ酸を再添加することで、細胞死ならびに CHOP 誘導は完全に阻害された。

以上より、アミノ酸飢餓でマクロライドによりオートファジーを阻害すると、アミノ酸プールが枯渇し CHOP 誘導を介してアポトーシスをおこすと考えられた。癌治療におけるマクロライドを用いた「アミノ酸飢餓誘導療法」の可能性が示唆される。

**P1-16.  
Targeting bortezomib-induced aggresome formation using vinorelbine enhances the cytotoxic effect along with ER-stress loading in breast cancer cell lines**

(乳腺科学)

○宮原 かな、小松誠一郎、石川 孝

(生化学)

風間 宏美、森谷 昇太、廣田 綾子

武村 淳、阿部 晃久、平本 正樹

宮澤 啓介

(耳鼻咽喉科・頭頸部外科学)

平澤 一浩

(中央校舎共同利用研究室)

國場 寛子

プロテアソーム系とオートファジー系は細胞内タンパク質 2 大分解系である。ユビキチン (Ub) 化タンパク質の大半はプロテアソームによって分解されるが、その処理能を超えたタンパク質は、微小管に沿って核近傍に輸送されてアグリソームを形成し、その一部はオートファジー系で分解される。今回、不良タンパク質輸送経路である微小管に着目し、乳癌細胞株 MDA-MB-231、MDA-MB-468 におけるプロテアソーム阻害剤と微小管阻害剤との併用効果を検討した。

蛍光顕微鏡および電子顕微鏡を用いた解析において、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ (BZ) の添加により、vimentin、Ub、p62 を含む凝集体・アグリソームが核近傍に形成されることを確認した。微小管脱重合阻害剤パクリタキセル (PTX) と微小管重合阻害剤ビノレルビン (VNR) をそれぞれ BZ と併用したところ、いずれも BZ 誘導性のアグリソーム形成が阻害された。しかし、抗 Ub 抗体を用いた immunoblotting 法では、PTX に比べ VNR