

**【目的】** 癌治療における5年生存率を向上させるには、癌細胞そのものを死滅させるのみならず、癌の浸潤や転移を阻害する医薬品の開発が極めて重要である。本研究では、癌の転移に寄与しているタンパク質のひとつとして、接着因子であるP-カドヘリンを標的とした抗転移作用を示す低分子化合物の開発を目的とする。癌の転移は、P-カドヘリンの細胞外ドメインのホモ二量体化に伴う細胞接着によって引き起こされる。ホモ二量体形成過程において、接着能のない不活性中間体であるXダイマーを経て、接着能を発揮するstrand-swapダイマーを形成する2段階のステップを経ることも分かっている。最近筆者は、この中間体のXダイマーの相互作用界面には、モノマータンパク質には見られない明確なポケットが存在することを見出した。このポケットを標的とすることで、高い親和性で中間体Xダイマーに結合する化合物の取得が期待される。さらに、中間体Xダイマーに安定的に結合する、すなわちXダイマーとの滞留時間が長い化合物を選択することによって、strand-swapダイマーへの遷移を阻害できるのではないかとという着想に至った。本研究はこのような相互作用の速度論に着目した化合物選抜を実施し、その細胞接着への効果を検証するものである。

**【方法】** 1. 表面プラズモン共鳴法 (SPR) を活用した化合物スクリーニング: 本研究では、P-カドヘリンのホモ二量体化に関わる細胞外ドメインの一部であるEC12 (Extracellular domain 1-2) を大腸菌発現系で調製した。中間体Xダイマーのみを形成し、strand-swapダイマーを形成しない変異型EC12を用いてSPR法による化合物スクリーニングを実施した。2. ヒット化合物の細胞接着阻害能の検証: スクリーニングにより得られた化合物がP-カドヘリンを内在的に発現する細胞の接着に対して影響を与えるかどうかを検証するため、化合物存在下における細胞の増殖能評価を実施した。

**【結果】** SPR法による低分子スクリーニングより、中間体であるXダイマーに対して $10^{-5} \sim 10^{-6}$  Mの解離定数 ( $K_D$ ) で結合する低分子化合物を複数取得することができた (図にスクリーニング結果を示す)。これまでカドヘリンに対するリガンドとして報告されている化合物はいずれもサブmMオーダー ( $10^{-4}$  Mオーダー) の弱い親和性であることと比較すると、Xダイマー特有のポケットを標的として高い親和性の化合物をとるという戦略が奏功している可能性が示唆された。また、これらの化合物を用いた細胞増殖試験では、一部の化合物が細胞増殖阻害効果を示した。

SPR スクリーニングにおける各化合物のレスポンス値

