

## がん細胞運動刺激因子阻害剤の構造活性相関

田中信忠<sup>1</sup>、羽賀新世<sup>2</sup>、日下部吉男<sup>1</sup>、橋本和宣<sup>2</sup>、永瀬久光<sup>2</sup>、中村和郎<sup>1</sup>

<sup>1</sup>昭和大・薬、<sup>2</sup>岐阜薬大

ヒト黒色腫細胞・ヒト繊維肉腫細胞から単離されたヒト由来自己分泌型がん細胞運動刺激因子 (human autocrine motility factor, hAMF) は、細胞外に分泌され産生細胞の運動を刺激するホモ 2 量体 (2 x 558 a.a.) サイトカインである。我々は、がん転移抑制剤の合理的デザインを目指し、hAMF と阻害剤との複合体の結晶構造解析 (1, 2) 並びに hAMF に関する構造機能相関研究 (3-5) を行ってきた。各種 AMF 阻害剤の効果を評価する *in vivo* の実験ではマウスを用いるため、マウス由来 AMF (mAMF) の立体構造情報も有用である。最近、mAMF と各種阻害剤との複合体の立体構造解析に成功した (6, 7) ので報告する。

mAMF と GST との融合蛋白質発現ベクターを含む大腸菌を大量培養した。2 段階のカラム操作で、結晶化に使える純度の mAMF 標品を得ることができた。結晶化条件の探索の結果、板状結晶が得られた (6)。Photon Factory のタンパクビームラインにおいて、X 線回折強度データを収集した。我々が決定した hAMF の立体構造をサーチモデルとした分子置換法により、mAMF の初期位相を決定した。また、共結晶化により各種阻害剤との複合体結晶を調製し、8 種類の阻害剤との複合体に関し 1.5~1.8 Å 分解能での構造決定を行なった (7)。

阻害剤の嵩高さ (炭素鎖の長さ) と阻害活性との間には相関が見られたことから、各種複合体の阻害剤結合部位の構造比較を行った。その結果、嵩の小さい阻害剤 (炭素鎖数 4 及び 5) 複合体の場合水分子が結合していた部位を、嵩高い阻害剤 (炭素鎖数 6) 複合体では官能基が占有していた。阻害活性を比較してみると、後者の阻害剤が統計的に有意に有効であった。これらの知見は、新規阻害剤のデザインに有用である。

- (1) Uemura, H. *et al.*, & Nakamura, K.T. *Protein Peptide Lett.* **8**, 317-322 (2001).
- (2) Tanaka, N. *et al.*, & Nakamura, K.T. *J. Mol. Biol.* **318**, 985-997 (2002).
- (3) Tsutsumi, S. *et al.*, & Raz, A. *FEBS Lett.* **534**, 49-53 (2003).
- (4) Yanagawa, T. *et al.*, & Raz, A. *J. Biol. Chem.* **280**, 10419-10426 (2005).
- (5) Haga, A. *et al.*, & Nagase, H. *J. Mol. Biol.*, in press (2006).
- (6) Naba, N. *et al.*, & Nakamura, K.T. *Acta Crystallogr. D* **60**, 2084-2086 (2004).
- (7) Tanaka, N. *et al.*, & Nakamura, K.T. *J. Mol. Biol.* **356**, 312-324 (2006).