

令和4年7月2日	発表者 上野 航太郎
【Journal】 <i>Angew. Chem. Int. Ed.</i> <b>2021</b> , 60, 9869-9874.	
【Title】 Cell-Based Identification of New IDO1 Modulator Chemotypes	
【Affiliation & Authors】 Department of Chemical Biology, Max Planck Institute of Molecular Physiology, Germany Elisabeth Hennes, Philipp Lampe, Lara Dötsch, Nora Bruning, Lisa-Marie Pulvermacher, Sonja Sievers Ziegler, and Herbert Waldmann.	
【Abstract】 免疫制御酵素 indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO1) は tryptophan (Trp) から kynurenine (Kyn) への変換を触媒する。Trp の枯渇と Kyn の蓄積は、エフェクターT細胞を減少させ、制御性T細胞の分化を促進する。本研究では、IDO1 を介した細胞内の Kyn 産生を検出する新規細胞ベースアッセイの開発を目的とした。現在、IDO1 活性を評価する細胞ベースアッセイに HPLC や <i>p</i> -DMAB、NFK Green、MP<CB[8]などが挙げられる。しかし、HPLC と <i>p</i> -DMAB では細胞上清の移送が必要であり、NFK Green は検出範囲が狭く、MP<CB[8]は細胞膜を介した拡散に時間がかかる等の問題がある。そこで、先行研究で開発されたクマリン系 Kyn センサーを用い、新規 Kyn アッセイを開発した。水性緩衝液中において、センサーの構造中のアルデヒド部位が Kyn のアニリン部位と可逆的に反応し、Kyn-sensor adduct を生成する。この Kyn-sensor adduct の蛍光を、励起波長 555 nm、蛍光波長 600 nm にて測定したところ、濃度依存的に蛍光を検出した。以上のように、蛍光強度範囲の高い細胞ベース Kyn アッセイの開発を検討した。 開発した細胞ベース Kyn アッセイを用いて、157332 種の化合物ライブラリーをスクリーニングした結果、0.62%の化合物がヒットした。特に強力であった thiohydantoin, oxazole-4-carboxamide, piperazin-2-one を用いさらなる分析をした。酵素アッセイの結果、この3化合物が IDO1 の直接阻害剤であることが判明した。しかし、細胞ベースアッセイで得られた IC <sub>50</sub> 値と差異があったため、各化合物存在下での IDO1 の分光学的特性を分析した。その結果、ヘム含有タンパク質が持つ 405 nm での特徴的な吸光ピークであるソーレー帯に吸収極大が見られた。3 化合物の存在下での IDO1 の吸収スペクトルは、既知ヘム競合物質と同様に、濃度依存的にソーレー帯の吸光度が減少した。また、鉄含有ポルフィリンである Hemin を加えることで IDO1 阻害活性が減弱することが明らかとなった。よって、3 化合物は、ヘムと競合することで IDO1 活性を抑制し Kyn 産生を減少させることが示唆された。 本研究において、クマリン系 Kyn センサーを用いて細胞内の Kyn を蛍光測定することで、IDO1 阻害剤を同定する新規細胞ベースアッセイを開発した。本方法により、3 種類のヘム競合型 IDO 阻害剤が同定された。この結果は、新規細胞ベースアッセイが IDO1 の新規阻害剤探索に有用であることを示唆している。	