

平成21年 4 月 28 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2006～2008

課題番号：18590510

研究課題名 (和文) 天然由来の新しいがん分子標的治療薬：TRAIL 感受性増強物質

研究課題名 (英文) Natural compounds that enhance TRAIL-induced apoptosis:  
a novel molecular targeted cancer therapy.

研究代表者

長谷川 寛雄 (Hasegawa Hiroo)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：00398166

研究成果の概要：アポトーシス誘導サイトカイン TRAIL によるアポトーシスを増強する物質を未知の天然物質を含むライブラリーを用いて検索し、特に効果が認められた物質を2種類同定した。ひとつはタイ原産キク科植物 *Blumea balsamifera* 由来のフラボノイド (BB1 と命名) であり、もうひとつは粘菌由来物質 Cycloanthranilylproline-derivative (FCB と命名) であった。いずれの物質も多種の白血病細胞に対し TRAIL との併用による相乗効果を発揮した。相乗効果のメカニズムを詳細に解析し、それぞれに異なるメカニズムであることを解明した。その結果、将来的には抗がん剤として単剤で使用することも可能なポテンシャルと合理性をもつ物質であることがわかった。いずれの成果も定評ある雑誌に掲載された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	1,800,000	0	1,800,000
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	510,000	4,010,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：分子標的治療・アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

TRAIL (TNF related apoptosis inducing ligand) は生体内に存在するサイトカインであり、特異的に結合するデスレセプター (TRAIL-R1, TRAIL-R2) を介してアポトーシスシグナルを伝達する。正常細胞はデスレセプターをほとんど発現していないが、多くのがん細胞株はデスレセプターを発現していることから、TRAIL はがん細胞選択性にアポトーシスを誘導する理想的ながん治療薬となり得る。しかしある種のがん細胞、特に白

血病細胞は TRAIL に抵抗性であるため期待される効果が得られないことが危惧されている。よって、TRAIL 抵抗性を克服する物質の発見は新しいがん分子標的治療につながる。

## 2. 研究の目的

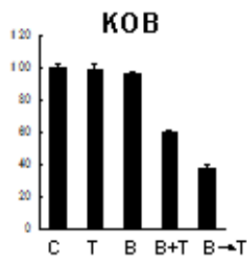
TRAIL 抵抗性を克服できる新規物質を天然より探索し、そのメカニズム解析をおこない、新規抗がん剤へと発展させる。

## 3. 研究の方法

我々は難治性白血病である成人T細胞白血病(ATL)細胞に対する TRAIL 感受性の検討により、ATL 細胞はデスレセプターを発現しているにもかかわらず、様々な部位でデスシグナルがブロックされていることを明らかにした(Br J Haematol. 2005:253-65)。そこで TRAIL 抵抗性 ATL 細胞株 KOB をモデルとして、我々が所有している天然資源ライブラリーより TRAIL 抵抗性を克服する新規物質のスクリーニングを開始した。効果のあった物質を用いて、DNA マイクロアレイ法、ウエスタンブロット法、siRNA 法などを用いて解析し、メカニズム解析をおこなった。

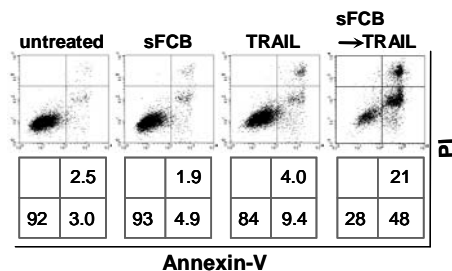
#### 4. 研究成果

TRAIL 抵抗性を有する ATL 細胞株 KOB を用いて様々な天然由来物質の中から TRAIL 感受性増強物質の探索をおこなった。この系を用いて得られたある種のフラボノイド (BB1) が末梢血単核球には影響を与えずに多種類の白血病細胞の TRAIL 感受性を高めることを発見し、その作用機序を明らかにして報告した (blood 2006:107:679-688)。



(図 1) KOB 細胞は BB1 と TRAIL の併用 (B+T) により増殖が抑制される。

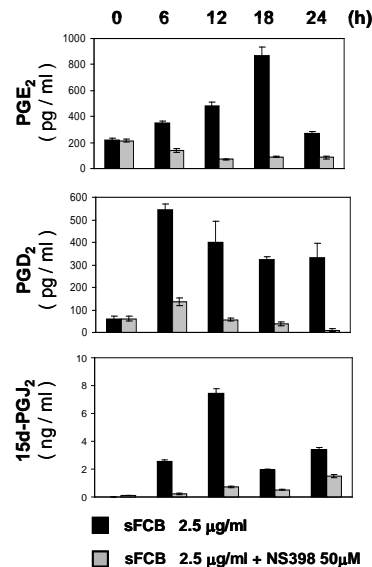
さらに、我々は Myxomycete *Fuligo candida* より単離された物質 (FCB) が TRAIL 感受性増強作用をもつことを発見した (図 2)。



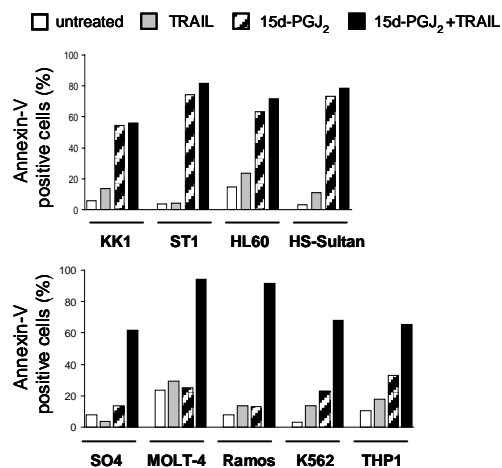
(図 2) Annexin/PI 染色によるアポトーシスの評価: Annexin/PI 陽性細胞は FCB と TRAIL の併用によって高まる。

その作用機序を検討したところ、FCB は COX-2 を活性化し、PGE<sub>2</sub>、PGD<sub>2</sub>、及び 15d-PGJ<sub>2</sub> の産生を増加させていた(図 3)。

FCB に代えて 15d-PGJ<sub>2</sub> を TRAIL と併用すると同様の感受性増強が起こり、この増強は由来の異なる他の白血病細胞株においても認められた (図 4)。



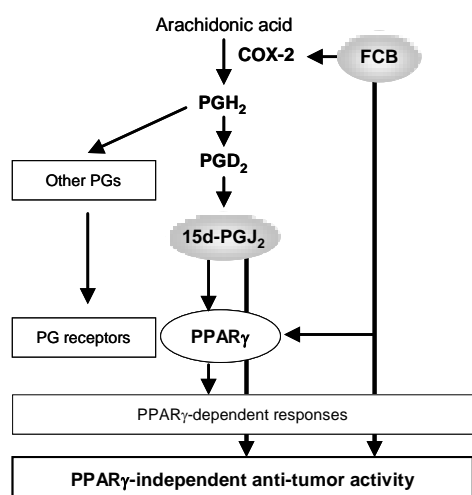
(図 3) FCB は COX-2 を活性化し、PGE<sub>2</sub>、PGD<sub>2</sub>、及び 15d-PGJ<sub>2</sub> の産生を増加させていた。また、その活性は COX-2 阻害剤 NS398 で抑制されることが確認された(図 3)。



(図 4) TRAIL と PGJ<sub>2</sub> の併用によって、Annexin-V 陽性細胞 (アポトーシス細胞) の増加が相乗効果的に様々な白血病細胞株でも認められた。

一方、核内レセプター (Peroxisome Proliferator -Activated Receptor gamma) PPAR<sub>γ</sub> に対する合成アゴニストは抗腫瘍効果をもつことが知られており、TRAIL 感受性増強作用もあることが最近報告された。15d-PGJ<sub>2</sub> は内因性の PPAR<sub>γ</sub> アゴニストであり、我々は 15d-PGJ<sub>2</sub> が PPAR<sub>γ</sub> に作用し感受性増強をもたらすと推測した。実際、FCB あるいは 15d-PGJ<sub>2</sub> 処理により KOB 細胞の PPAR<sub>γ</sub> 発現は増強した。しかし、PPAR<sub>γ</sub> アンタゴニストによっても、また siRNA により PPAR<sub>γ</sub> 発現抑制を行っても FCB や

15d-PGJ2 による TRAIL 感受性増強作用は阻害されなかった。さらに他の白血病細胞について検討したところ FCB や 15d-PGJ2 による感受性増強作用は PPAR $\gamma$  発現と相関していなかった。よって FCB や 15d-PGJ2 は、PPAR $\gamma$  非依存性に TRAIL 感受性を増強する新しい物質であることが明らかとなった (blood 2007;110:1664-1674)。



(図 5) FCB によるシグナル伝達

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

以下全て査読有り

- ① 安部安樹, 鶴田一人, 尾坂明美, 柳原克己, 塚崎邦弘, 長谷川寛雄, 山田恭暉, 上平憲.  
Foxp3 expression on normal and leukemic CD4+CD25+ T cells implicated in human T-cell leukemia virus type-1 is inconsistent with Treg cells.  
Eur J Haematol. 2008 Sep;81(3):209-17.
- ② 臼井哲也, 柳原克己, 塚崎邦弘, 村田健, 長谷川寛雄, 山田恭暉, 上平憲.  
Characteristic expression of HTLV-1 basic zipper factor (HBZ) transcripts in HTLV-1 provirus-positive cells.  
Retrovirology. 2008 Apr 22;5:34.
- ③ 長谷川寛雄, 山田恭暉, 小宮山寛機, 林正彦, 石橋正巳, 砂塚敏明, 菅原和行, 鶴田一人, 増田昌人, 高須信行, 塚崎邦弘, 朝長万左男, 上平憲.  
A novel natural compound, a

cycloanthranilylproline derivative (Fuligocandin B), sensitizes leukemia cells to apoptosis induced by tumor necrosis factor related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) through 15-deoxy-Delta 12, 14 prostaglandin J2 production.  
Blood. 2007 Sep 1;110(5):1664-74.

- ④ 赤松紀彦, 山田恭暉, 長谷川寛雄, 真壁幸樹, 浅野竜太郎, 熊谷泉, 村田健, 今泉芳孝, 塚崎邦弘, 鶴田一人, 菅原和行, 跡上直, 柳原克己, 上平憲.  
High IL-21 receptor expression and apoptosis induction by IL-21 in follicular lymphoma  
Cancer Lett. 2007 Oct 28;256(2):196-206.

[学会発表] (計 3 件)

- ① 長谷川寛雄, 「Nutlin-3a, an MDM2 antagonist, induces p53-mediated cellular senescence and apoptosis in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma cells.」, Annual meeting of American society of hematology, 2006年12月10日, Orlando, USA.
- ② 長谷川寛雄, 「A novel natural compound, cycloanthranilylproline derivative (FCB), sensitizes leukemia cells to TRAIL-induced apoptosis through 15-d-PG J2 production」, Annual meeting of International society for Experimental Hematology, 2007年9月28日, Hamburg, Germany.
- ③ 長谷川寛雄, 「A novel natural compound, FCB, sensitizes leukemia cells to TRAIL-induced apoptosis through 15-d-PG J2 production」, 日本癌学会学術総会, 2007年10月5日, 横浜.

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川 寛雄

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・助教  
研究者番号：00398166

(2) 研究分担者

山田 恭暉

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・准教授  
研究者番号：60145232

上平 憲

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授  
研究者番号：80108290

(3)連携研究者

小宮山 寛機

北里大学 基礎研究所・所長

研究者番号：00106676

林 正彦

いわき明星大学 薬学科・教授

研究者番号：20164965

