

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590641

研究課題名(和文) HTLV-1 インテグラーゼ特異的阻害剤の開発：天然由来物質ラメラリンの可能性

研究課題名(英文) Possibility of a new synthetics from lamellarins: anti-leukemic and integrase-inhibitory effects against HTLV-1-related leukemia cells.

研究代表者

長谷川 寛雄 (Hasegawa, Hiroo)

長崎大学・大学病院・講師

研究者番号：00398166

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000 円、(間接経費) 780,000 円

研究成果の概要(和文)：ラメラリン 20は、我々が発見したインテグラーゼ阻害活性を持つ海洋由来天然物であり、さらにこの化合物の化学合成に成功した。本研究において、ラメラリン 20の誘導体が、末梢血単核球細胞や代表的T細胞白血病細胞にはほとんど影響を与えないものの、HTLV-1関連白血病細胞株に対し明らかな増殖抑制を主にアポトーシスによって起こすことを明らかにした。これらの発見から、この誘導体のHTLV-1感染細胞株に対するターゲット遺伝子解析を進めた。インテグラーゼ阻害効果の評価は現在も進行中である。誘導体のうちNo.5と仮名した誘導体は特に抗腫瘍効果が高く、そのメカニズム解析についても継続しておこなっている。

研究成果の概要(英文)：Lamellarins, a family of hexacyclic pyrrole alkaloids originally isolated from marine invertebrates, has promising anti-tumor activity. It is also reported that lamellarin alpha 20-sulfate inhibits HIV-1 integrase. In the present study, we investigated anti-tumor activity against HTLV-1 related leukemia cell lines and activity of integrase inhibition of HTLV-1 by using new synthesis of lamellarins. We focused on an agent No.5, a new synthetics from lamellarins, that showed potent anti-tumor activity against HTLV-1 related leukemia cell lines and ATL cells but no harm to PBMCs from healthy donors. Microarray analysis indicated that unique apoptosis-related genes were up-regulated by the No.5 agent. We still continue investigating the mechanisms of apoptotic pathways as well as function of integrase inhibition caused by a new synthetics from lamellarins.

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：抗HTLV-1薬 分子標的治療薬 成人T細胞白血病 新規抗がん剤

1. 研究開始当初の背景

Human T-cell Lymphotropic Virus(HTLV-1)はヒトリンパ球に感染するレトロウイルスであり、特に成人T細胞白血病(ATL)を発症した場合、多剤併用化学療法や移植を含めた加療がおこなわれているものの、種々の白血病のなかでもとりわけ難治性である。

2009年度に難病指定となった関連疾患の脊髄症(HAM)も難治性疾患であり、いずれも根本的な治療法は確立していない(J Clin Oncol. 2009;27:453-9. Tsukasaki K et al.)。

HTLV-1は主に母乳から乳児に感染することから、感染の拡大を防ぐため、厚生労働省は感染の早期発見につながる妊婦の検査を公費で行うよう全国の自治体に通知する方針を固めた、と報道されている(2010年10月)。

よって、母子感染レベルからの対応とHTLV-1関連疾患発症後の新規治療薬の開発の双方があらためて求められている。

2. 研究の目的

我々は天然由来の新規インテグラーゼ阻害薬であるラメラリン 20及びその誘導体の化学合成にはじめて成功した。

さらに、ラメラリン 20の誘導体が成人T細胞白血病(ATL)細胞株に対し著明な増殖抑制を引き起こすことを発見した。

本研究によって作用機序の核となる分子標的を同定し、(はじめての)抗HTLV-1薬や、白血病に対する新しい分子標的薬の開発を展望することが目的である。

3. 研究の方法

本研究では、ラメラリン 20誘導体がHTLV-1感染細胞の増殖抑制を引き起こす作用機序解明が中心におこなった。

(a) ラメラリン 20誘導体によるHTLV-1関連白血病細胞に対する増殖抑制を細胞周期解析、アポトーシス、細胞老化(セネッセンス)あるいはネクローシスなどの視点で評価・鑑別をおこなった。

(b) インテグラーゼ阻害効果について、酵素活性、HTLV-1遺伝子発現量の変化、HTLV-1インテグラーゼの遺伝子レベルとタンパクレベルでの発現変化、ルシフェラーゼアッセイ、ツーハイブリッド法などを組み合わせて評価した。

(c) マイクロアレイ法による変動遺伝子の解析やマイクロRNAの変動解析をおこなった。

(e) 細胞増殖抑制に関わる標的分子の候補となった遺伝子やタンパクの発現変化については、定量的PCR法やウェスタンブロット法により確認する。

4. 研究成果

ラメラリン 20誘導体はHTLV-1関連白血病細胞に対しnano-Mレベルの低濃度でHTLV-1関連細胞株に増殖抑制をもたらした。

数種類の誘導体においていずれも再現性が認められたが、特にNo5と仮名した誘導体においてはその特性が優れていると判断し、この誘導体を用いて更なる検討をおこなった。細胞株における細胞死を解析したところ、典型的なアポトーシス死を起こすことを見出した。

シグナル伝達解析をmicro-arrayなどの手法も用いて検討したところ、いくつかの特徴ある遺伝子がアポトーシス誘導の際に重要な働きをしていることが示唆された。現在これらの候補遺伝子解析を続行中である。

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 10件)

1) Aberrant overexpression of membrane-associated mucin contributes to tumor progression in adult T-cell leukemia/lymphoma cells.

Hasegawa H, Komoda M, Yamada Y, Yonezawa S, Tsutsumida H, Nagai K, Atogami S, Tsuruda K, Osaka A, Sasaki D, Yanagihara K, Imaizumi Y, Tsukasaki K, Miyazaki Y, Kamihira S.

Leuk Lymphoma. 2011 Jun;52(6):1108-17.

2) LBH589, a deacetylase inhibitor, induces apoptosis in adult T-cell leukemia/lymphoma cells via activation of a novel RAIDD-caspase-2 pathway.

Hasegawa H, Yamada Y, Tsukasaki K, Mori N, Tsuruda K, Sasaki D, Usui T, Osaka A, Atogami S, Ishikawa C, Machijima Y, Sawada S, Hayashi T, Miyazaki Y, Kamihira S.

Leukemia. 2011 Apr;25(4):575-87.

3) Overexpression of Enhancer of zeste homolog 2 with trimethylation of lysine 27 on histone H3 in adult T-cell leukemia/lymphoma as a target for epigenetic therapy.

Sasaki D, Imaizumi Y, Hasegawa H, Osaka A, Tsukasaki K, Choi YL, Mano H, Marquez VE, Hayashi T, Yanagihara K, Moriwaki Y, Miyazaki Y, Kamihira S, Yamada Y.

Haematologica. 2011 May;96(5):712-9.

4) Heterogeneity in clonal nature in the smoldering subtype of adult T-cell leukemia: continuity from carrier status to smoldering ATL.

Kamihira S, Iwanaga M, Doi Y, Sasaki D, Mori S, Tsuruda K, Nagai K, Uno N, Hasegawa H, Yanagihara K, Morinaga Y, Tsukasaki K, Taniguchi H.

Int J Hematol. 2012 Apr;95(4):399-408.

5) Impact of miR-155 and miR-126 as novel biomarkers on the assessment of disease progression and prognosis in adult T-cell leukemia.

Ishihara K, Sasaki D, Tsuruda K, Inokuchi N, Nagai K, Hasegawa H, Yanagihara K, Kamihira S. *Cancer Epidemiol.* 2012 Dec;36(6):560-5.

6) Relevance of molecular tests for HTLV-1 infection as confirmatory tests after the first sero-screening.

Ishihara K, Inokuchi N, Tsushima Y, Tsuruda K, Morinaga Y, Hasegawa H, Yanagihara K, Kamihira S.

J Immunoassay Immunochem. 2014;35(1):74-82.

7) Use of diagnostic and therapeutic biomarkers in personalized oncology based on adult T-cell leukemia/lymphoma research. Hasegawa H, Kamihira S

Personalized Medicine Universe, Volume 2, 2013; 7-11

8) Transient proliferation of donor-derived ATL cell-like lymphocytes early after allogeneic stem cell transplantation in an adult T-cell leukemia/lymphoma patient.

Taguchi M, Imaizumi Y, Taguchi J, Imanishi D, Sasaki D, Hasegawa H, Tsushima H, Hata T, Miyazaki Y. *Blood.*

2013;121(21):4428-30.

9) Oral administration of an HSP90 inhibitor, 17-DMAG, intervenes tumor-cell infiltration into multiple organs and improves survival period for ATL model mice.

Ikebe E, Kawaguchi A, Tezuka K, Taguchi S, Hirose S, Matsumoto T, Mitsui T, Senba K, Nishizono A, Horii M, Hasegawa H, Yamada Y, Ueno T, Tanaka Y, Sawa H, Hall W, Minami Y, Jeang KT, Ogata M, Morishita K, Hasegawa H, Fujisawa J, Iha H.

Blood Cancer J. 2013;3:e132.

10) 成人T細胞白血病の細胞免疫形質診断へのアプローチ 鶴田一人, 長谷川寛雄, 佐々木大介, 森 沙耶香, 濱崎典子, 松野貴子, 本村裕美子, 淵上麻衣, 岡本 南, 津島裕子, 西村典孝, 木下知美, 森 勇人, 松本成良, 宇野直輝, 森永芳智, 上平 憲, 柳原克紀 *Cytometry Research* 2013: 23(2) 23-31.

〔学会発表〕(計 7件)

1) HTLV-1 感染細胞の早期腫瘍バイオマーカーとしての CD26 抗原、長谷川寛雄、塚崎邦弘、宮崎康司、上平憲、第 71 回日本癌学会学術総会、2012 年 9 月、札幌

2) CD26 antigen act as a predictive biomarker in the evolution from early to overt smoldering ATL. 長谷川寛雄、鶴田一人、佐々木大介、森沙耶香、土井裕子、石原香織、長井一浩、柳原克紀、塚崎邦弘、宮崎康司、上平憲、第 74 回日本血液学会学術集

会、2012 年 10 月、京都

3) 成人T細胞白血病リンパ腫に対する HSP 90 阻害薬 NVP-AUY922 の抗腫瘍効果 谷口広明、長谷川寛雄、佐々木大介、安東恒史、澤山靖、今西大介、今泉芳孝、田口潤、波多智子、塚崎邦弘、森直樹、柳原克紀、宮崎泰司 第 6 回 HTLV-1 研究会・シンポジウム、2013 年 8 月、東京

4) 成人 T 細胞白血病リンパ腫に対する Heat shock protein 90 阻害薬 NVP-AUY922 の抗腫瘍効果 谷口広明、長谷川寛雄、今泉芳孝、塚崎邦弘、森直樹、宮崎泰司 第 72 回日本癌学会学術総会、2013 年 10 月、横浜

5) EZH2 阻害剤 DZNep は ATL 細胞の BCL2 発現を抑制しアポトーシスを誘導する 佐々木大介、長谷川寛雄、今泉芳孝、宮崎泰司、上平憲、第 72 回日本癌学会学術総会、2013 年 10 月、横浜

6) Heat Shock Protein 90 Inhibitor NVP-AUY922 Has Potent Anti-Tumor Activity With Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma Cells Hiroaki Taniguchi, Hiroo Hasegawa, Daisuke Sasaki, Koji Ando, Yasushi Sawayama, Yoshitaka Imaizumi, Daisuke Imanishi, Jun Taguchi, Tomoko Hata, Kunihiro Tsukasaki, Katsunori Yanagihara, Naoki Mori, and Yasushi Miyazaki, 55th American Society of Hematology Annual Meeting, NewOrleans, LA, USA, Dec7-10, 2013.

7) EZH2 Inhibitor DZNep Induces Apoptosis In Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma Cells By BCL2 Suppression Via Regulation Of Mir-181a Sasaki Daisuke, Hasegawa Hiroo, Taniguchi Hiroaki, Yoshitaka Imaizumi, Uno Naoki, Morinaga Yoshitomo, Yasushi Miyazaki, and Yanagihara Katsunori, 55th American Society of Hematology Annual Meeting, NewOrleans, LA, USA, Dec7-10, 2013.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

特記事項なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長谷川寛雄 (HASEGAWA, Hiroo)

長崎大学病院・講師

研究者番号: 00398166

(2) 研究分担者

岩尾正倫 (IWAO, Masatomo)

長崎大学・工学部・教授

研究者番号： 00100892

(3)連携研究者
()

研究者番号：