

## 論文審査の要旨

報告番号	総研第 275 号	学位申請者	外山 政明
審査委員	主査	有馬 直道	学位
	副査	出雲 周二	副査
	副査	久保田 龍二	副査
			吉 満 誠

**Synergistic inhibition of HTLV-1-infected cell proliferation by combination of cepharanthine and a tetramethylnaphthalene derivative**

(テトラメチルナフタレン誘導体とセファランチンの併用は  
HTLV-1 感染細胞の増殖を相乗的に阻害する)

HTLV-1 感染により引き起こされる成人 T 細胞白血病 (ATL) は、一旦発症すると致死的な造血器の悪性腫瘍である。現在、強力な化学療法や造血幹細胞移植などが行われているが、その治療成績は良くない。ATL は化学療法に抵抗性を示すことが多く、この機序として ABC トランスポーターである P 糖蛋白質の発現などが報告されている。現在、新しい作用機序を有する新規薬剤の開発が急務となっている。一方、学位申請者らはこれまでに、選択的な ATL 細胞増殖抑制作用を有するテトラメチルナフタレン誘導体 2-Acetyl-3-hydroxy-5,6,7,8-tetrahydro-5,5,8,8-tetramethylnaphthalene (TMNAA) を同定している。TMNAA の詳細な標的分子は不明ではあるが、ATL 細胞に恒常的に発現し、白血病細胞の増殖に深く関与している NF- $\kappa$ B を阻害しないことも申請者らは明らかにしている。一方、cepharanthine (CEP) は円形脱毛症などに臨床応用されている植物アルカロイドで、近年 NF- $\kappa$ B 阻害作用や P 糖蛋白質機能を阻害することが報告されている。本研究では、TMNAA と CEP の併用による ATL 細胞増殖抑制効果について検討を行った。

その結果、本研究で以下のことが明らかになった。

- 1) TMNAA 又は CEP の単独処理による 50% 細胞増殖抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) は、ATL 細胞株である S1T 細胞では TMNAA:1.65  $\mu$ M, CEP:1.97  $\mu$ M であり、HTLV-1 感染 T 細胞株である MT-2 細胞では TMNAA:1.17  $\mu$ M, CEP:3.42  $\mu$ M であった。一方、TMNAA と CEP の併用での IC<sub>50</sub> は、S1T 細胞では 1:1 (0.93  $\mu$ M;0.465  $\mu$ M TMNAA+0.465  $\mu$ M CEP) の時に、MT-2 細胞では 3.162:1 (0.65  $\mu$ M;0.494  $\mu$ M TMNAA+0.156  $\mu$ M CEP) の時に強い相乗的抑制効果を示した。
- 2) HTLV-1 非感染 T 細胞株 (MOLT-4 細胞, CEM 細胞) 及び健常人の末梢単核球細胞 (PBMC) に対して TMNAA 単独では細胞増殖抑制効果を示さず、一方、CEP 単独では、MOLT-4 細胞に 4.6  $\mu$ M, CEM 細胞に 3.9  $\mu$ M 及び PBMC に 0.8  $\mu$ M の細胞増殖抑制効果を示した。しかし、これらを併用しても相乗効果作用を示さなかった。
- 3) Annexin V 解析より、S1T 細胞に対し CEP 単独処理ではアポトーシス細胞の増加が認められたが、TMNAA 単独処理では、その効果は認められなかった。TMNAA と CEP の併用により、CEP 単独処理時と比較して、アポトーシス細胞の増加が認められた。
- 4) Western blot 解析より、S1T 細胞に対して TMNAA と CEP 併用することで、CEP 単独処理の時よりもアポトーシス誘導に関わる cleaved caspase-3 や cleaved caspase-9, cleaved PARP タンパク質の増加が認められた。

以上の結果より、TMNAA と CEP の併用は、ATL 細胞株や HTLV-1 感染 T 細胞株に対して、相乗的な増殖抑制作用を示すことが明らかとなった。また、TMNAA 単独ではアポトーシスを誘導しないことから、TMNAA は CEP によって誘導されるアポトーシスを増強していることも明らかとなった。現時点では、TMNAA の ATL 細胞からのトランスポーターによる流出は不明であるが、TMNAA と CEP の併用で、CEP の持つ P 糖蛋白質抑制効果により、TMNAA 耐性を回避できる可能性も示唆された。

本研究は、ATL 治療法の確立を目的として、新規薬剤 TMNAA と CEP との併用効果を検討したものであり、学位申請者は、これらの薬剤の併用が ATL 細胞に対して相乗効果作用を示すことを明らかにした。本研究の結果は、将来の抗 ATL 化学療法における有効な選択肢の 1 つになる可能性を示した点で非常に興味深い。よって、本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。