

研究会報告

第 89 回 東京医科大学・東京薬科
大学・免疫アレルギー研究会

日 時：平成 25 年 6 月 4 日（火）
午後 6 : 00 ~ 8 : 30
会 場：東京医科大学病院 教育棟 5 階 講堂
当番世話人：東京医科大学八王子医療センター
外科学第五講座
主任教授 島津 元秀
東京医科大学泌尿器科学講座
主任教授 橋 政昭

1. ジギタリス種子より単離されたカルデノリド配糖体の腫瘍細胞毒性

(東京薬科大学 薬学部)

黒田 明平、久保 聡、松尾侑希子
阿藤 友美、佐藤 純一、藤野 智史
早川磨紀男、三卷 祥浩

【目的】 一般にカルデノリド配糖体は、Na, K-ATPase (NaKA) 阻害を作用機序として強心活性を示すものが多いが、一部のカルデノリドおよびその配糖体は腫瘍細胞に対して強力な細胞毒性を有することが報告されている。今回、

天然からの新規抗がん剤のシーズ探索の一環として、ジギタリス種子の成分探索を行い、単離されたカルデノリド配糖体の腫瘍細胞に対する細胞毒性を評価した。カルデノリド配糖体を抗がん剤として展開していく場合、その強心活性は障害となる。そこで NaKA 阻害活性についても併せて評価した。

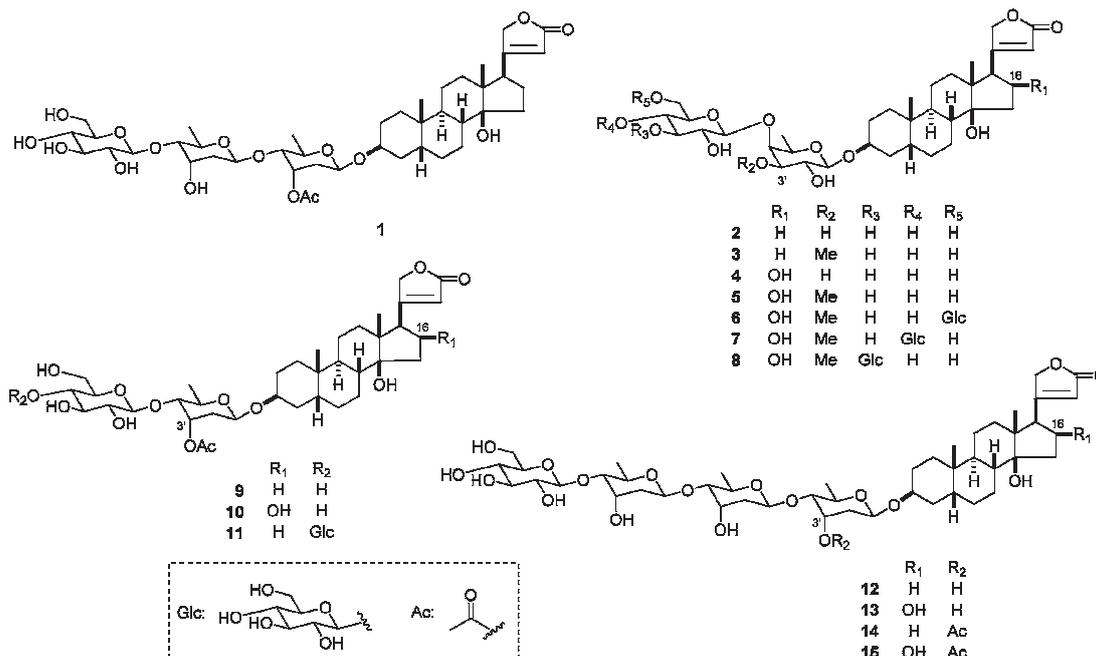
【実験・結果】 ジギタリス (ゴマノハグサ科 *Digitalis purpurea* L.) 種子の MeOH 抽出エキスを常法により分離・精製し、新規化合物 **1**、**8**、**11** を含む計 15 種のカルデノリド配糖体 (**1-15**) を単離した。これらの化学構造は、NMR を中心としたスペクトルデータの解析により、以下に示す通りに決定した¹⁾。

化合物 **1-15** の HL-60 ヒト急性前骨髄性白血病細胞株に対する細胞毒性を Table 1 に示す。化合物 **1-4**、**9-14** は陽性対

Table 1 Cytotoxic Activities of **1-15**, Etoposide, and Cisplatin against HL-60 cells

Compound	IC ₅₀ (μM) ^a	Compound	IC ₅₀ (μM) ^a
1	0.56 ± 0.0028	10	0.40 ± 0.041
2	0.060 ± 0.0013	11	0.038 ± 0.0004
3	0.19 ± 0.018	12	0.034 ± 0.0019
4	0.49 ± 0.077	13	0.26 ± 0.013
5	1.9 ± 0.21	14	0.32 ± 0.054
6	3.0 ± 0.19	15	2.4 ± 0.064
7	3.7 ± 0.10		
8	3.5 ± 0.30	Etoposide	0.46 ± 0.0017
9	0.069 ± 0.0004	Cisplatin	1.6 ± 0.029

^aData are presented as the mean values ± S.E.M. of three experiments performed in triplicate.



照の etoposide と同等、あるいはそれ以上の強い活性を示した。さらに、**2**、**9**、**11**、**12** は、ヒト肝がん由来細胞株 HepG2 細胞に対しても強い細胞毒性 (IC_{50} : 0.38-3.2 μ M; actinomycin D: IC_{50} 1.2 μ M) を示した。構造活性相関について考察すると、アグリコンに結合した糖の 3 位水酸基のメトキシ化やアセチル化、アグリコンの 16 位の水酸化により、細胞毒性が減弱化することが分かった。今回単離されたカルデノリド配糖体の NaKA 阻害活性 (IC_{50} : 3.8-46.2 μ M) は、陽性対照である digitoxin (IC_{50} : 2.7 μ M) よりも弱かった。特に **10** は etoposide と同程度の細胞毒性を有し、一方で NaKA 阻害活性は弱い (IC_{50} : 12.7 μ M) ことから、新規抗がん剤の候補化合物として期待される。

- 1) “New Cardenolide Glycosides from the Seeds of *Digitalis purpurea* and Their Cytotoxic Activity”, Kuroda M. *et al.*, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, accepted March 5, 2013.

2. ブラジル産伝承生薬 *Ateleia glazioviana* より単離された新規イソフラボン glaziovianin A の腫瘍細胞毒性について

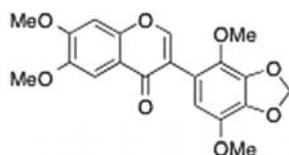
(東京薬科大学 薬学部 漢方資源応用学教室)

横須賀章人、三巻 祥浩

【目的】天然由来の生物活性化合物あるいはそれらの基本骨格をもとにアナログ合成された化合物は、現代の医薬品開発においても重要な役割を担っている。演者らは創薬を指向し、世界の伝承生薬から腫瘍細胞に対して新規作用メカニズムにより選択的な細胞毒性活性を示す化合物の探索を中心に研究を展開してきた。その研究過程で見出した、ブラジル産伝承生薬 *Ateleia glazioviana* より単離された新規イソフラボン glaziovianin A の腫瘍細胞毒性について報告する。

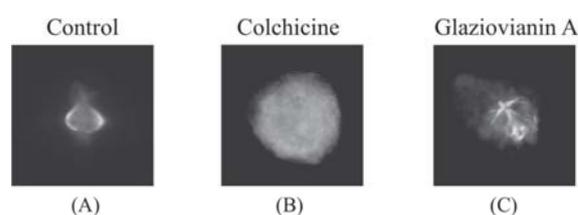
【実験・結果】*A. glazioviana* の葉のエタノール抽出エキスが HL-60 ヒト白血病細胞に対して顕著な細胞毒性 (IC_{50} 4.3 μ M) を示したことから、活性成分の分離・精製を行った。その結果、新規イソフラボン (glaziovianin A) を含む合計 5 種のイソフラボンを単離した。5 種の化合物は、いずれも HL-60 細胞に対して細胞毒性を示し (IC_{50} 0.29-23 μ M)、glaziovianin A は最も強い活性 (IC_{50} 0.29 μ M) を示した。

Glaziovianin A について、癌研究会ヒト培養がん細胞パネルスクリーニングを行った結果、有効濃度が十分に低く、腫瘍細胞に対する感受性の差が認められた。さらに COM-



glaziovianin A

PARE 解析において、glaziovianin A は tubulin 重合阻害物質に類似した活性スペクトルを示した。そこで、glaziovianin A の作用メカニズムの解明のため、3Y1 ラット正常線維芽細胞を用いて、細胞周期および微小管への影響を検討した。細胞分裂期の形態観察において、コントロールの細胞では二極紡錘体が形成された (写真 A)。Tubulin 阻害剤である colchicine は tubulin を破壊し、紡錘体が形成されなかった (写真 B) のに対し、glaziovianin A は微小管ダイナミクスを阻害し、多極紡錘体が形成された (写真 C)。従って、glaziovianin A は、colchicine とは異なる作用機序で細胞周期を M 期で停止させていることが明らかとなった。



【考察と展望】Glaziovianin A は、含窒素化合物でないにも関わらず微小管に作用を示す点で興味深い。さらに、微小管ネットワークにはほとんど影響を与えずに、細胞分裂期に多極紡錘体構造を誘導して細胞周期を停止させることから、微小管ダイナミクスを作用点とする新しい抗腫瘍活性物質といえる。筑波大学との共同研究により glaziovianin A の全合成と類縁化合物の合成を行い、現在、glaziovianin A の tubulin への結合部位の同定など、詳細な作用メカニズムの解明を検討中である。

3. Thy28 による T 細胞抗原受容体を介する細胞死の調節

(免疫学)

豊田 博子、矢那瀬紀子、水口純一郎

Thy28 分子は免疫系を中心とする複数の組織に発現している核タンパクであり、*in vitro* における B および T 細胞の抗原受容体を介する細胞死を制御していることを明らかにしてきた。今回、Thy28 トランスジェニック (TG) マウスを作製し、*in vivo* における Thy28 の役割を検討した。Thy28 TG マウスでは胸腺の過形成が観察された。また、抗 CD3 抗体の投与によって誘導される胸腺細胞死は野生型マウスに比べて抑制されており、この抗 CD3 抗体誘導性の細胞死の抑制に伴って、JNK 活性化や Bcl-2 ファミリー分子である Bcl-xL ダウンレギュレーションの抑制が観察された。この細胞死の抑制が胸腺の過形成につながるものと思われる。さらに、Thy28 TG マウスでは自己ペプチドによって誘導される実験的自家免疫性脳脊髄炎 (EAE) に感受性が高く、その原因として CD4 陽性ナイーブ T 細胞によって誘導される IFN- γ 産生の亢進が関わっているものと推測された。以上より、Thy28 は T 細胞抗原受容体を介する細胞死および