

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)

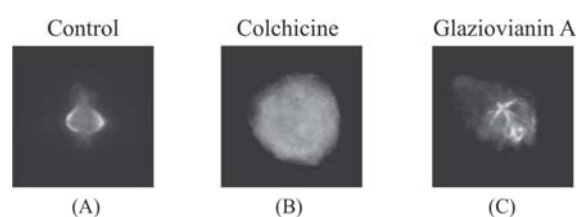
横須賀章人、三巻 祥浩

【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-

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。



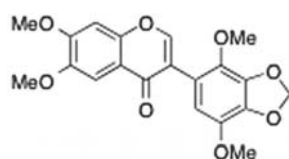
【考察と展望】Glaziovianin A は、含窒素化合物でないにも関わらず微小管に作用を示す点で興味深い。さらに、微小管ネットワークにはほとんど影響を与えずに、細胞分裂期に多極紡錘体構造を誘導して細胞周期を停止させることから、微小管ダイナミクスを作用点とする新しい抗腫瘍活性物質といえる。筑波大学との共同研究により glaziovianin A の全合成と類縁化合物の合成を行い、現在、glaziovianin A の tubulin への結合部位の同定など、詳細な作用メカニズムの解明を検討中である。

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



glaziovianin A

脾臓におけるサイトカイン産生を調節しており、この調節機序の破綻が自己免疫疾患の発症に関わっていると思われる。

4. ヒト皮膚 T 細胞リンパ腫株に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤とレチノイン酸の抗腫瘍効果の検討

(皮膚科学) 加藤 雪彦、江草 智津、前田 龍郎
坪井 良治

皮膚 T 細胞リンパ腫の治療を困難にしているのは薬剤耐性である。多くの悪性腫瘍と同様、皮膚 T 細胞リンパ腫においてもレチノイン酸耐性が認められる。我々は、悪性黒色腫、前立腺癌などにおいて、レチノイン酸受容体 β (RAR β) はエピジェネティクス機構により発現が抑制されているが、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) 阻害剤はそれを再発現させ抗腫瘍効果を示すことを報告してきた。HDAC 阻害剤は、一昨年より本邦でも、皮膚 T 細胞リンパ腫の治療に使われるようになった。今回、ヒト皮膚 T 細胞リンパ腫においてヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 MS-275 とレチノイン酸 Am80 の併用による抗腫瘍効果の検討を行った。ヒト T 細胞リンパ腫細胞株 SeAx に対する薬剤の効果をも MTT アッセイで検討したところ、HDAC 阻害剤の濃度依存性に増殖抑制効果を示し、レチノイン酸との併用により相加効果を示した。その抑制効果は、FACS を用いて検討したところ、細胞周期停止ではなくアポトーシス誘導によるものであった。また、RAR β 2 はプロモーター領域のヒストン脱アセチル化と DNA メチル化により発現が抑制されているが、HDAC 阻害剤とレチノイン酸の投与により再発現した。またいくつかのヒストンメチル化マーカーについても検討した。さらに、NOD-SCID マウス皮下に作成した *in vivo* モデルにおいても、併用療法は顕著な抗腫瘍効果を示した。以上の結果より、エピジェネティクス機構により抑制されていたレチノイン酸受容体が再発現し、HDAC 阻害剤とレチノイン酸の相加的な抗腫瘍効果が発揮されたと考えられた。皮膚 T 細胞リンパ腫に対する新しい治療法の臨床応用が期待される。

5. IgG4 関連眼疾患における Th 細胞の関与

(眼科) 上田俊一郎、白井 嘉彦、木村 圭介
後藤 浩

【目的】 IgG4 関連疾患とは、全身の様々な臓器に IgG4 陽性のリンパ形質細胞浸潤を伴う腫大、腫瘍、結節、肥厚性病変がみられる病態である。一方、IgG4 関連眼疾患は他の眼窩リンパ増殖性疾患、なかでも低悪性度リンパ腫 (MALT リンパ腫) との鑑別が困難なことがある。今回我々は、IgG4 関連眼疾患の Th 細胞の発現パターンを検討したので報告する。

【方法】 東京医大病院眼科を受診し、最終的に確定診断に至った IgG4 関連眼疾患 12 例、眼窩 MALT リンパ腫 12 例を対象とした。摘出した腫瘍に対し、フローサイトメトリーを用いて CD4 陽性 T 細胞内の IFN- γ (Th1)、IL-4 (Th2)、IL-17 (Th17) の発現を解析した。

【結果】 IgG4 関連眼疾患では、CD4 陽性 T 細胞内に Th1 細胞 4.02%、Th2 細胞 0.73%、Th17 細胞 0.21% と、腫瘍内に Th1 優位な浸潤がみられた。また、眼窩 MALT リンパ腫でも Th1 細胞 11.58%、Th2 細胞 1.12%、Th17 細胞 1.24% と、腫瘍内に Th1 優位な浸潤がみられた。

【結論】 多くの既報によれば、IgG4 関連疾患の病態には Th2 細胞の関与が指摘されている。しかし、本研究では Th1 細胞優位の免疫系が病態に関与している可能性が示唆された。

6. 健康小児に発症した Clostridium difficile 関連腸炎の 4 例

(小児科) 木村 将裕、志村 優、長尾 竜兵
佐藤 智、西亦 繁雄、熊田 篤
河島 尚志

【はじめに】 抗菌薬や抗腫瘍薬の使用により正常細菌叢が破壊され Clostridium difficile (CD) 関連腸炎 (CDAD) が引き起こされる事は知られている。今回、健康小児に発症した CDAD を 4 例経験したので報告する。

【症例】 症例 1: 7 歳 2 か月女児。発熱あり近医で CAM 内服処方される。その後も症状持続するため CLDM、AZM、CTR、CDTR-PI 投与されていた。8 日後に嘔吐、下痢が出現したため精査目的に当院入院となった。腹部 CT にて結腸壁の浮腫性肥厚とリンパ節の腫大を認めた。下部消化管内視鏡 (CF) ではリンパ濾胞が増加しており、経過中 CDtoxin 陽性となり CD 関連腸炎と診断した。経口 VCM 投与にて症状の改善を認めた。症例 2: 5 か月男児。発熱が持続するため精査目的に受診。採血上、炎症反応高値を認め同日入院した。CTR 開始し、第 2 病日より ABPC/SBT、AZM 追加した。その後も発熱持続し、冠動脈の輝度亢進を認めることから川崎病と診断してアスピリン、ステロイドパルスを行った。入院経過中に頻回の下痢が出現、CDtoxin 施行したところ陽性であった。下痢は抗菌薬の中止にて自然軽快した。症例 3: 3 か月男児。半月前より 1 日数回の肉眼的血便を認め来院。CDtoxin 陽性であった。末梢血好酸球数高値であり、アレルギー性腸炎を疑い注腸造影施行した所、粘膜の不整な所見を認めた。外来にて食事内容の調節を行い、次第に血便の改善を認めた。症例 4: 5 歳 3 か月男児。慢性中耳炎の診断で抗菌薬を変更しつつ断続的に加療していた。経過中に腹痛が出現し、軟便が持続したため当科受診。CDtoxin 陽性であり精査目的に入院した。CF ではリンパ濾胞や偽膜の形成は認めなかった。CDAD に対し経口 VCM を開始