

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目

Anti-adult T-cell leukemia effects of *Bidens pilosa*  
(ビデンスピローサの抗成人T細胞白血病効果)

氏名 仲間真司



## 論文要旨

【背景と目的】 ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 感染によって、成人 T 細胞白血病 (ATL) が発症する。ATL は既存の化学療法に抵抗性を示し、急性型やリンパ腫型では生存期間の中央値が 13 か月未満と極めて予後不良である。したがって、ATL 発症予防法や発症後の生存期間を延長させる治療法の開発が非常に重要である。 *Bidens pilosa* Linn. var.

*radiata* (ビデンスピローサ) は熱帯・亜熱帯地方に広く分布する植物であり、民間療法に使用される。本研究ではビデンスピローサ抽出物の安全性を確認し、HTLV-1 感染 T 細胞に対する増殖抑制作用や細胞死誘導作用とその分子機構について検証した。

【方法】 HTLV-1 感染 T 細胞株 (HUT-102、MT-2、MT-4、ED-40515(-))、ATL 患者及び健康人の末梢血単核球を実験に使用した。細胞生存率は WST-8 法で解析した。アポトーシスの解析は、Apo2.7 抗体を用いてフローサイト

メトリーで陽性細胞を検出した。細胞周期解析は、核DNA量を分析した。カスパーゼ活性は発光基質の分解を測定した。アポトーシス関連タンパク質や細胞周期関連タンパク質発現へのビデンスピローサの作用はウェスタンブロット法で解析した。転写因子への作用はEMSA法で解析を行った。細胞内ROSの産生はROS感受性蛍光プローブを用いてフローサイトメトリーにて検出した。HTLV-1 p19抗原の測定にはELISAを用いた。HTLV-1感染T細胞株を移植したSCIDマウスにビデンスピローサを経口投与し、腫瘍容積、腫瘍重量、体重を測定し、安全性と抗ATL作用を検証した。

【結果】ビデンスピローサはHTLV-1感染T細胞株及びATL細胞の生存率を特異的に抑制した。ビデンスピローサの成分であるカフェ酸もHTLV-1感染T細胞株の生存を阻害した。アポトーシスについての検討ではカスパーゼ3、8、9の活性化とアポトーシス抑制タンパク質（Bcl-2、Bcl-x<sub>L</sub>、c-IAP2、XIAP、sirivin、

c-FLIP ) の発現抑制とアポトーシス促進タンパク質 ( Bax ) の発現増強が示された。細胞周期の検討では、 G1 期での細胞周期停止と細胞周期を促進するタンパク質 ( cyclin D1 、 cyclin D2 、 CDK6 ) の発現抑制、ならびに細胞周期停止タンパク質 ( p21 ) の発現促進が観察された。ビデンスピローサはIKK $\beta$ 、 I $\kappa$ B $\alpha$  のリン酸化や JunB 及び JunD の発現を抑制し、 NF- $\kappa$ B と AP-1 の DNA 結合を抑制した。 NF- $\kappa$ B の不活化や細胞生存率の低下作用には ROS 産生の誘導も関与していた。さらに、ウイルス産生もビデンスピローサは抑制した。 SCID マウスに移植した腫瘍サイズと重量は、ビデンスピローサ投与群で減少が見られた。

【結論】 ビデンスピローサは HTLV-1 感染 T 細胞にアポトーシスと細胞周期の停止を誘導した。そのメカニズムは NF- $\kappa$ B と AP-1 の不活化であり、 ROS 産生の誘導も関与していた。以上、ビデンスピローサの抗 ATL 作用を確認し、新たな治療薬の可能性を示した。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	仲間 真司
論文審査委員	審査日	平成 23 年 11 月 11 日	
	主査教授	松下 正之	
	副査教授	村田 五一郎	
	副査教授	高山 千利	
(論文題目)			
Anti-adult T-cell leukemia effects of <i>Bidens pilosa</i> (ビデンスピローサの抗成人T細胞白血病効果)			
(論文審査結果の要旨)			
上記論文に関して、研究にいたる背景と目的、研究内容、および研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (HTLV-1) 感染によって、発症する成人T細胞白血病 (ATL) は末梢性 CD4 陽性の T 細胞性腫瘍である。HTLV-1 感染 T 細胞の増殖には nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) と activator protein 1 (AP-1) が関与することが報告されており、これらの分子を標的とすることで新たな ATL 治療法を確立できる可能性がある。本研究では、沖縄県宮古島産の薬草であるビデンスピローサの薬理学的な安全性と、HTLV-1 感染 T 細胞に対する増殖抑制効果について検証している。			
2. 研究内容：方法、結果および結論			
細胞は HTLV-1 感染 T 細胞株 (HUT-102, MT-2, MT-4, ED-50515(-)), ATL 患者及び健常人の末梢血単核球を用いている。アポトーシス誘導作用、細胞周期停止作用についてはウェスタンブロット法、フローサイトメトリーを用いた方法で解析している。転写因子の活性化には EMSA 法で解析した。in vivo の実験では C.B-17/Icr-scid マウスを用いて、ビデンスピローサの抗腫瘍効果を検討している。			
結果は HTLV-1 感染細胞株及び ATL 細胞の生存率を低下させたが、健常人 PBMC や活性化 T 細胞に及ぼす影響は軽微であった。細胞周期を G1 期で停止させた。カスパーゼ依存性のアポトーシスを誘導した。アポトーシス誘導タンパク質の発現を増強し、アポトーシス抑制タンパク質の発現を阻害した。細胞周期促進タンパク質の発現を阻害し、細胞周期停止タンパク質の発現を増強した。IKK- $\beta$ のリン酸化抑制及び JunB, JunD の発現抑制により、NF- $\kappa$ B 及び AP-1 の活性を阻害した。ROS の産生誘導が、NF- $\kappa$ B 活性の阻害に関与していた。ウイルス粒子の放出を抑制した。構成成分の一つである caffeic acid は HTLV-1 感染細胞株の生存率を低下させた。SCID マウスへの腫瘍細胞移植実験において、副作用を認めず、腫瘍増殖を抑制した。			
結論として、ビデンスピローサは HTLV-1 感染細胞や ATL 細胞の NF- $\kappa$ B や AP-1 活性を阻害することで、細胞周期の停止やアポトーシスを誘導することが、in vitro 及び in vivo で明らかにしている。以上の結果から、ビデンスピローサは ATL の新たな治療薬や発症予防薬としての応用の可能性が示唆される。			

### 3. 研究成果の意義と学術水準

本研究は ATL の新規治療薬開発の可能性を、様々な実験結果をもとに検討した報告である。ATL はまだ確立した治療法が存在しない現状があり、本研究の成果は ATL 治療においてビデンスピローサの成分が有効である可能性を示唆している。

以上より、本学位論文は学位授与に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。