

Title	Resveratrol induces apoptosis of human malignant B cells by activation of caspase-3 and p38 MAP kinase pathways
Sub Title	レスベラトロールによるヒトB細胞性悪性腫瘍に対するカスパーゼ-3とp38 MAPキナーゼ経路の活性化を介したアポトーシス誘導
Author	清水, 隆之
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.2 (2007. 6) ,p.55-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070602-0055

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Resveratrol induces apoptosis of human malignant B cells by activation of caspase-3 and p38 MAP kinase pathways

(レスベラトロールによるヒトB細胞性悪性腫瘍に対するカスパーゼ-3とp38 MAPキナーゼ経路の活性化を介したアポトーシス誘導)

清水 隆之

内容の要旨

赤ワインのポリフェノール成分であり、多くの植物に含まれるレスベラトロールは、抗酸化、抗炎症、血小板凝集抑制、血管拡張などの様々な生理活性作用を示すことが報告されている。加えて、近年では、様々な悪性腫瘍細胞に対し、増殖抑制効果を示すことが報告されている。しかし、難治性造血器腫瘍のひとつである多発性骨髄腫に対する抗腫瘍効果についての報告はない。多発性骨髄腫は、既存の抗癌剤による化学療法では、完治は不可能である。造血幹細胞移植を併用した大量化学療法で、生存率の延長は期待できるものの、高齢での発症の多い多発性骨髄腫では、その副作用が治療上、大きな問題となっており、生体に対する侵襲の少ない、より腫瘍特異的な新規治療薬の開発が急務である。今回、我々は、多発性骨髄腫細胞株IM9とバーキットリンパ腫細胞株HS-sultaniiに対してレスベラトロールを作用させ、その抗腫瘍効果について検討した。

レスベラトロール投与群では、濃度と時間依存性に細胞増殖が抑制された。なお、以降の実験では、多発性骨髄腫細胞株IM9を使用した。細胞周期の解析では、S期での細胞周期の停止と次いで、sub-G1分画の増加を認め、S期停止によるアポトーシス誘導が示された。レスベラトロールを投与した細胞株のサイトスピン標本のギムザ染色では、アポトーシス小体の出現が観察された。さらに、アネキシンVとヨウ化プロピジウム二重染色では、時間依存性にアネキシンV陽性分画すなわちアポトーシス分画の増加を認めた。アポトーシスの経路の解析のため、カスパーゼ-3の活性化を検討したところ、レスベラトロール投与群で、活性化カスパーゼ-3の増加を認めた。全カスパーゼ阻害剤とカスパーゼ-3阻害剤をそれぞれ前投与し、レスベラトロールを投与したところ、アポトーシスが阻害された。ミトコンドリア膜電位の解析では、レスベラトロール投与群で、膜電位の低下を認めた。

細胞周期関連蛋白の解析では、ATM、Chk1、Chk2のリン酸化を認めた。さらに、CDK2のリン酸化、サイクリンAとEの蛋白発現量の増加を認めた。アポトーシス関連蛋白の解析では、Baxの蛋白発現量の増加とMcl-1の低下を認めたが、Bcl-2は不変であった。

p38 MAPキナーゼ経路の解析では、p38 MAPキナーゼ阻害剤の前投与でアポトーシスが阻害された。また、レスベラトロール投与後に、p38 MAPキナーゼのリン酸化を認めた。

以上より、レスベラトロールによる多発性骨髄腫を含むヒトB細胞性悪性腫瘍に対するカスパーゼ-3とp38 MAPキナーゼ経路の活性化を介したアポトーシス誘導が示された。天然生理活性物質であるレスベラトロールが多発性骨髄腫等に対する新規治療薬になり得る可能性が示唆された。

論文審査の要旨

レスベラトロール (RES) は、赤ワインに含まれるポリフェノール成分の一種であり、抗酸化、抗炎症、血小板凝集抑制作用などを示すことが知られている。近年、種々の悪性腫瘍細胞に対し、抗腫瘍効果を示すことが報告され、注目されている。今回、難治性造血器腫瘍である多発性骨髄腫細胞株IM9とバーキットリンパ腫細胞株HS-Sultaniiに対し、RESを投与し、アポトーシス誘導による増殖抑制効果を認めた。アポトーシス誘導機構の解析では、ミトコンドリア膜電位の低下とカスパーゼ3の活性化、ATMチェックポイントを経た細胞周期のS期停止、p38 MAPKの活性化を認めた。

審査では、まずRESの正常細胞への影響についての質問がなされた。本実験で使用した濃度では、文献上、正常末梢血単核球や造血幹細胞に対する増殖抑制効果はないと報告されているが、正常細胞におけるカスパーゼ経路や細胞周期、MAPK経路への影響を解析した報告はないと返答された。これに対して、増殖刺激因子を加えた状態での正常リンパ球に対する影響を検討する必要があるとの助言があった。次いで、ヒトでも有効血中濃度への到達は可能かとの質問がなされた。数mgを経口摂取すれば理論上可能であると返答されたが、より薬理学的効果の高い誘導体の作成について検討すべきであるとの助言があった。また、他の細胞株への効果についての質問がなされたが、骨髄腫細胞株であるRPMI8226とU266に投与し、同様の結果が得られていること、文献上、白血病細胞株でも抗腫瘍効果の報告があることが説明された。アポトーシス誘導機構に関し、本実験で示された経路は、骨髄腫に特異的なものであるかとの質問に対して、他の悪性腫瘍株ではミトコンドリア経路の報告はあるが、S期停止の報告は、他に卵巣癌細胞株のみで、p38 MAPK経路の報告は、本実験のみであると返答されたが、JNKやERK、p53経路についても検討すべきであるとの助言があった。本実験におけるカスパーゼ経路、細胞周期、p38 MAPK経路の関連性についての質問がなされたが、カスパーゼ3阻害時のp38 MAPKやp38 MAPK阻害時のカスパーゼ3の活性化の状態、ATM経路の阻害剤投与などを検討中であるとの説明がなされた。ROSの関与についての質問もなされ、カタラーゼ投与によるアポトーシス阻害は認めないものの、今後の検討課題であると返答された。最後に、今後の臨床応用への可能性についての質問がなされたが、患者検体や骨髄腫モデルマウスへの投与実験を検討中であるとの説明がなされた。

以上のように本研究は、今後さらに検討すべき点はあるものの、レスベラトロールによる多発性骨髄腫に対するアポトーシス誘導経路を明らかにし、新規治療薬としての可能性を示した点で、臨床的、有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 池田 康夫

発生・分化生物学 須田 年生 先端医科学 河上 裕

微生物学・免疫学 小安 重夫

学力確認担当者: 池田 康夫

審査委員長: 須田 年生

試問日: 平成19年2月8日