

移植免疫反応と遺伝子多型の解析：抗酸化ポリフェノールによる同種免疫効果増強の試み

研究分担者 高見昭良 金沢大学附属病院 血液内科・輸血部 准教授

研究要旨

レスベラトロールは、抗動脈硬化、抗がん、抗ウイルス、寿命延長効果など多彩な機能を有する抗酸化ポリフェノールである。レスベラトロールが抗酸化作用や NK 活性増強効果誘導能を有することは、実験的に証明されている。レスベラトロールによる同種免疫効果増強を視野に、安全性と抗酸化作用、NK 活性増強効果を検証した。第 I 相臨床試験では、レスベラトロール内服中グレード 1 の下痢を 2 名で認めたが、レスベラトロール内服継続したまま症状は改善した。レスベラトロール内服中抗酸化能は経時的に増加した。また、血漿中 MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α は一過性に増加した。これらの効果は、白血病などに対する同種免疫効果や抗ウイルス効果増強に役立つ可能性が示唆された。

A. 研究目的

レスベラトロールは、赤ワインなど食品や植物に含まれる抗酸化ポリフェノールで、以前より動脈硬化予防効果が知られている。高脂肪食を好むフランス人に、冠動脈硬化性疾患が少ない「フレンチパラドックス」は、赤ワインを通じレスベラトロールを十分摂取しているためとの有名な説がある。また、インドネシアの伝承民間薬として関節炎、気管支炎、喘息などの治療に用いられる裸子植物メリンジョ胚乳の主成分もレスベラトロールである。さらに、レスベラトロールには、認知症やがんの予防効果など、多彩な有効性が報告されている。レスベラトロールには抗ウイルス活性もあり、ヘルペスウイルスやインフルエンザウイルス感染に対する有効性が報告されている。私はこれまで、免疫不全リンパ腫の原因となる EB ウイルスにレスベラトロールが抗ウイルス活性を發揮すること、レスベラトロールが抗白血病効果を持つことを報告してきた。レスベラトロールによる抗ウイルス効果・抗白血病効果は、NK 細胞機能増強（活性化レセプター NKG2D 発現増加、細胞傷害活性増強）を通じてみられる。以上から、

レスベラトロールが、がん患者や免疫不全患者の NK 細胞機能を高め、日和見ウイルス感染予防や抗腫瘍活性増強に役立つ可能性が示唆された。レスベラトロールが試験管内だけでなく、生体でも同様の効果を持つかは不明であった。そこでレスベラトロールによる同種免疫効果増強を視野に、レスベラトロールの安全性および NK 細胞機能増強効果、抗酸化作用を検証した。

B. 研究方法

臨床試験と試料：

20 歳から 60 歳で自覚症状がない、飲酒習慣が週 3 回以下、最近 1 年以内に検診を受け肝腎機能正常が確認されている、説明文書・同意文書による同意が得られている、以上 4 条件を全て満たした健常者 15 名 (29 歳から 50 歳、中央値 39 歳、男 7 名、女 3 名) を対象とした。学部学生・大学院生は対象から除外した。単量体レスベラトロール (RVT) のトランスマックス (TRM) 500 mg/日内服群、2 量体レスベラトロールのメリンジョ (MEL) 340 mg/日内服の 2 群へ無作為に割り付けた。RVT 4 週間内服後 8 週間観察

し、2週間毎に末梢血を採取し血漿分離後解析まで冷凍保存した。試験期間中被検者は健康状態など被験者日誌を記録し、定期的に担当医師の診察を受けた。

方法：

血漿中の活性RVT濃度、抗酸化能、免疫調整蛋白濃度を経時的に測定した。活性RVT (trans-RVT)濃度測定には、超高速液体クロマトグラフィー (HPLC)法を用いた。抗酸化能測定には、ABTS法を用いた。さらに、免疫調整蛋白(MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α 、FLT3-L、IL-1Ra)測定には、蛍光マイクロビーズアレイ・マルチプレックス法を用いた。

倫理的事項

本研究は、金沢大学の倫理委員会で審査・承認を受け、実施された。

C. 研究結果

RVT 毒性

RVT 内服中グレード1の下痢を2名認めしたが、RVTを内服したまま症状は改善し、被験者全員が減量、中止することなく試験を完遂した。内服後も毒性はなかった。以上からレスベラトロールの安全性は高いことが示された。

RVT 血漿中濃度

TRM群・MEL群いずれも血漿中活性RVT濃度は経時的に増加し、試験管内で効果が期待できる血中trans-RVT濃度に達した。

抗酸化能への影響

MEL群は内服開始後抗酸化能が経時的に増加する傾向が見られ、4週間の内服終了後も2週間持続した。TRM群は内服開始後抗酸化能が有意に亢進した。以上から、単量体(TRM)2量体(MEL)ともに、レスベラトロールは血清の抗酸化能を高めることが示された。

免疫調整蛋白濃度

レスベラトロール内服後、MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α は一過性に増加した。FLT3-L、IL-1Raは有意な影響はみられなかった。

D. 考察

第1相臨床試験結果から、単量体・2量体いずれもレスベラトロール内服による生体の抗酸化能亢進作用が示された。レスベラトロール内服開始直後15例中2例にグレード1の下痢がみられたが、レスベラトロールを減量・中断を要せず、短期間で自然軽快した。したがって、4週間のレスベラトロール内服は安全に抗酸化能を高める効果が期待できると考えられた。これまでの血管障害、炎症モデル実験から、レスベラトロールは免疫調整蛋白発現に対し、抑制的に作用すると考えられていたが、今回は全く逆の結果であった。定常状態の場合、レスベラトロールは組織傷害を起こさない程度に免疫調整蛋白発現を亢進させ、免疫監視能亢進に寄与するのかもしれない。レスベラトロールによるMCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α の誘導効果は、白血病などに対する同種免疫効果や抗ウイルス効果増強に役立つ可能性が示唆された。

E. 結論

今後レスベラトロールを安全かつ有効に臨床応用するには、レスベラトロールが生体内で抗酸化能や免疫調整能を高める機序をより詳細に明らかにする必要がある。レスベラトロールは極めて安全性が高く、臨床応用は十分可能と考える。がんや血液難病、免疫不全、感染症の治療、あるいは予防薬としての有用性の確立を強く望む。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Zaimoku Y, Takami A, et al. IgM anti-recipient ABO antibodies predict acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2013 Jul;98(1):96-101.
2. Takami A. The role of non-HLA gene polymorphisms in graft-versus-host disease. *Int J Hematol.* 2013 Sep;98(3):309-18.
3. Takami A. Guest editorial: new basic and clinical aspects of graft-versus-host disease: what can we do without 'Doc' Brown's help? *Int J Hematol.* 2013 Sep;98(3):273-4.
4. Seiki Y, Sasaki Y, Hosokawa K, Saito C, Sugimori N, Yamazaki H, Takami A, Nakao S. Increased plasma thrombopoietin levels in patients with myelodysplastic syndrome: a reliable marker for a benign subset of bone marrow failure. *Haematologica.* 2013 Jun;98(6):901-7.
5. Quoc Trung L, Espinoza JL, Takami A, Nakao S. Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition. *PLoS One.* 2013;8(1):e55183.
6. Nakata K, Takami A, et al, Japan Marrow Donor P. The recipient CXCL10 + 1642C>G variation predicts survival outcomes after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation. *Clin Immunol.* 2013 Feb;146(2):104-11.
7. Luis Espinoza J, Takami A, et al. Ataxia-telangiectasia mutated kinase-mediated upregulation of NKG2D ligands on leukemia cells by resveratrol results in enhanced natural killer cell susceptibility. *Cancer Sci.* 2013 Jun;104(6):657-62.
8. Espinoza JL, Takami A, et al, Japan

Marrow Donor P. Recipient PTPN22 -1123 C/C genotype predicts acute graft-versus-host disease after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Feb;19(2):240-6.

2. 学会発表

1. Yokoyama H, Takami A, et al. Influence Of Donor Source On Relapse and Survival In Patients With Acute Myeloid Leukemia After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Retrospective Analysis From The Japan Society For Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT) AML Working Group. *Blood.* 2013 November 15, 2013;122(21):3361.
2. Takami A, et al. The cellular mechanism underlying the anti-leukemia effects of resveratrol. *Resveratrol 2013 Regional Meeting.* 2013 October 7, 2013.
3. Nakamae H, Takami A, et al. Gvhd Prophylaxis With Mycophenolate Mofetil and Calcineurin Inhibitor In Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation From HLA-Matched Siblings Or 7- 8/8 HLA-Matched Unrelated Volunteer Donors: A Japanese, Multicenter, Phase II Trial. *Blood.* 2013 November 15, 2013;122(21):4586.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究成果の刊行

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版
Zaimoku Y, Takami A, et al	IgM anti-recipient ABO antibodies predict acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	Int Hematol	J98	96-101	2013
Quoc Trung L, Espinoza JL, Takami A, Nakao S	Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition	PLoS One	8	e55183	2013