

【目的】 関節リウマチは、慢性炎症を生じる自己免疫疾患である。本疾患では、関節内の滑膜組織に流入した免疫細胞がサイトカインを介して、滑膜線維芽細胞の異常増殖と滑膜線維芽細胞による炎症性サイトカインなどの産生を引き起こし、関節破壊に至る。異常増殖した滑膜線維芽細胞は、疾患初期の炎症発生や慢性期の免疫細胞とのサイトカインによる相互作用など、関節リウマチにおいて重要な役割を担っている。そのため、滑膜線維芽細胞の異常増殖の抑制あるいは異常増殖した滑膜線維芽細胞選択的なアポトーシスシグナル誘導は関節リウマチの新たな治療標的となりうる。そこで、今回、独自に保有する天然資源である熱帯植物や放線菌の抽出物から、関節リウマチ患者由来滑膜線維芽細胞株へのアポトーシス誘導作用を有する天然物を探索した。

【方法】 タイ産植物抽出物および土壌放線菌培養抽出物を探索資源として、まず、細胞毒性を指標にスクリーニングを行った。各抽出物より、関節リウマチ患者由来の滑膜線維芽細胞株 MH7A の細胞生存率が 30% 以下であるものを選択した後 (1 次スクリーニング)、MH7A の細胞生存率が、ヒト胎児由来腎細胞株 HEK293 または正常ヒト由来肺線維芽細胞株 WI38VA13 sub 2 RA の細胞生存率より低いもの (2 次スクリーニング) をヒットサンプルとした。さらに、単培養抽出物で細胞生存率が 95% 以上であった放線菌に関して、放線菌 2 種の共培養を実施し、単培養と比較して共培養抽出物に MH7A の細胞毒性が観察されたものをヒットサンプルとした。なお、細胞毒性は Fluorometric microculture cytotoxicity assay を用いて測定した。スクリーニングにて得られたヒットサンプルを大量に抽出し、MH7A への細胞毒性を指標に分画し、細胞死誘導作用を有する天然物の単離・精製を行った。

【結果】 タイ産植物抽出物ライブラリー内の 724 種について、MH7A 細胞毒性を指標とした 1 次スクリーニングを実施した結果、211 種がヒットサンプルとして得られた。この 211 種のうち、HEK293 を用いた 2 次スクリーニングでは 85 種が、WI-38 VA13 sub 2 RA を用いた 2 次スクリーニングでは 38 種がヒットサンプルとして得られた。また、これらのうち 12 種は両細胞の生存率が MH7A の細胞生存率よりも高いサンプルであった。放線菌単培養抽出物ライブラリー内の 772 種の抽出物について、1 次スクリーニングにより 76 種がヒットサンプルとして得られた。次に、WI-38 VA13 sub 2 RA を用いた 2 次スクリーニングでは 15 種がヒットサンプルとして得られた。また、単培養抽出物で細胞毒性を示さなかった放線菌の共培養抽出物 15 種のうち、4 種が単培養抽出物と比較して、MH7A に対する細胞毒性を有していた。ヒットサンプルとして得られたオオホザキアヤメ科植物 *Cheilocostus speciosus* の根茎メタノール抽出物を、MH7A 細胞毒性を指標に分画することで、既知サポニンである化合物 1~3 を得た。MH7A に対する化合物 1~3 の IC₅₀ はそれぞれ、2.9 μM、10.0 μM、3.5 μM であった。次に、ウルシ科植物 *Spondias mangifera* の葉部メタノール抽出物を分画し、既知化合物 4~8 を得た。化合物 4~7 はいずれも本植物より単離報告のある天然物であったが、化合物 8 は本植物より初めての単離報告であった。化合物 4~8 の MH7A に対する細胞毒性を評価したところ、化合物 4 および 7 は MH7A に対する細胞毒性を有し、その IC₅₀ はそれぞれ、158.7 μM、51.8 μM であった。

MH7A に対して細胞死誘導作用を有する天然物

