

氏名	伊藤 満
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1828号
学位授与の日付	平成15年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Possible role of ceramide as an indicator of chemoresistance: decrease of the ceramide content via activation of glucosylceramide synthase and sphingomyelin synthase in chemoresistant leukemia. (化学療法抵抗性の指標としての ceramide の役割—化学療法耐性の白血病細胞では glucosylceramide 合成酵素と sphingomyelin 合成酵素の活性化を経て ceramide 含有量は減少する—)
論文調査委員	(主査) 教授 前川 平 教授 中畑 龍俊 教授 内山 卓

論文内容の要旨

癌に対する抗癌剤治療(化学療法)において癌細胞が多剤耐性になることは患者の予後悪化に大きくかかわってくる。白血病の治療に用いられる化学療法剤は白血病細胞にアポトーシスを誘導し、その結果殺細胞効果を発揮することが知られている。そして白血病細胞の化学療法に対する耐性獲得には、何らかの要因がアポトーシス実行過程を抑制することが重要なステップであると考えられている。従来は単なる細胞膜成分と考えられていたスフィンゴ脂質の一種である ceramide は現在では細胞内アポトーシス誘導シグナル分子として機能することが明らかになっている。この ceramide 量の増加を指標として、アポトーシスシグナルを直接活性化する治療は、化学療法耐性を克服できる可能性があると期待されている。

本研究では、ceramide 量が白血病における化学療法抵抗性の指標としての役割を果たすかどうかを調べた。薬剤感受性の HL-60 細胞に doxorubicin (DOX) を投与すると細胞内 ceramide 量が増加しアポトーシスは増強した。しかし薬剤耐性である HL-60 / ADR 細胞においてはいずれも増加しなかった。この2つの細胞間では DOX の細胞への取り込みに差はなかった。さらに、HL-60 / ADR 細胞に N-acetylsphingosine (C2-ceramide) を加えると、multidrug resistant-1 蛋白(MDR-1)の発現や DOX の細胞内取り込みに影響を及ぼすことなく DOX によるアポトーシスが増強された。HL-60 / ADR 細胞では HL-60 細胞と比較して glucosylceramide 合成酵素(GCS)と sphingomyelin 合成酵素(SMS)の活性が高く、また ceramide 量は少なかった。さらに、GCS が過剰発現している HL-60 / GCS 細胞においては、DOX 処理にても ceramide 量は増加せずアポトーシス増強効果も少なかった。これらのことより、培養白血病細胞の薬剤耐性機構には ceramide 系の制御が深く関与していると考えられた。

次に、白血病患者より得られた白血病細胞を用いて細胞内 ceramide 量、GCS および SMS 活性を調べた。化学療法に耐性の患者(19~70歳, n=9)において ceramide 量は化学療法に感受性のある患者(20~84歳, n=14)に比して低かった(6.4±1.8 vs 9.5±2.7 pmol / nmol-phosphate)。そして GCS および SMS 活性は化学療法耐性群が化学療法感受性群に比して2倍以上高値であった(GCS : 0.61±0.27 vs 0.22±0.12 nmol / mg protein / h, SMS : 0.11±0.05 vs 0.044±0.013 nmol / mg protein / h)。MDR-1 は化学療法耐性群の患者4人のうち1人にわずかに発現しているに過ぎなかったが、Bcl-2 は4人共明らかにその発現が認められた。

以上より、白血病における薬剤耐性では、GCS と SMS の活性化を経た ceramide 量の減少が関与しており、少なくとも検討可能な症例の中では MDR-1 ではなく Bcl-2 発現と関係していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

癌細胞が抗癌剤に対して耐性になることは患者の予後悪化に大きくかかわる。白血病細胞の抗癌剤耐性化は、何らかの要因がアポトーシス実行過程を抑制することが重要なステップであると確認されている。細胞膜成分であるスフィンゴ脂質の

一種 ceramide は細胞内アポトーシス誘導シグナル分子として機能することが明らかになっている。申請者は、ceramide 量が白血病における化学療法抵抗性の指標としての役割を果たすかどうかを解析した。

薬剤感受性の HL-60 細胞に doxorubicin (DOX) を投与すると細胞内 ceramide 量が増加しアポトーシスは増強したが薬剤耐性である HL-60 / ADR 細胞においてはいずれも増加せず、さらに HL-60 / ADR 細胞では glucosylceramide 合成酵素 (GCS) と sphingomyelin 合成酵素 (SMS) の活性が高く、また ceramide 量は少ないことを明らかにした。また申請者は白血病患者より得られた白血病細胞を用いて細胞内 ceramide 量、GCS および SMS 活性を調べ、化学療法に耐性の患者において ceramide 量は化学療法に感受性のある患者に比して低く、GCS および SMS 活性は化学療法耐性群が化学療法感受性群に比して 2 倍以上高値であることを明らかにした。すなわち白血病における薬剤耐性では、GCS と SMS の活性化を経た ceramide 量の減少が関与していることを明らかにした。

以上の研究は、白血病細胞の多剤耐性と ceramide の関連についての解明に貢献し、血液腫瘍学の進展に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年3月3日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。