

氏 名	内 田 三 千 彦 うち だ み ち ひ こ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	論 医 博 第 816 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 7 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	人白血病細胞における HGPRTase 活性と 6-MP, 6-TG の作用

(主 査)
論文調査委員 教 授 井 村 裕 夫 教 授 内 野 治 人 教 授 市 川 康 夫

論 文 内 容 の 要 旨

6-Mercaptopurine (6-MP) と 6-Thioguanine (6-TG) はともにヒト白血病治療に用いられている薬剤であるが、その治療効果は全症例にわたって同程度に期待されるわけではなく、白血病病型や個体差のあることが推測される。著者はヒト慢性骨髄性白血病細胞 (CML 細胞), ヒト急性非リンパ性白血病細胞 (AL 細胞), ヒト正常白血球を用いて両薬剤の治療効果の差異に関与する因子について検討した。6-MP, 6-TG のいずれも Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase (HGPRTase) によってそれぞれ 6-TIMP, 6-TGMP に活性化されることが知られている。そこで著者は白血病細胞および白血球内 HGPRTase 活性を検討した。HGPRTase 粗酵素液として細胞 Homogenate を用い、 ^{14}C -Hypoxanthine (HX) と phosphoribosyl pyrophosphate (PRPP) とを基質として反応せしめ、産生された ^{14}C -IMP 量を算定して HGPRTase 活性とした。本活性を 1 時間 incubate 後に産生される、 2×10^7 細胞あたりの IMP 量で表現すると、CML 細胞群, AL 細胞群, 正常白血球群の HGPRTase 活性はそれぞれ、 $0.230 \pm 0.086 \mu\text{moles}$, $0.172 \pm 0.068 \mu\text{moles}$, $0.193 \pm 0.114 \mu\text{moles}$ となり、CML 細胞群の HGPRTase 活性は AL 細胞群のそれよりも高値の傾向を示した ($p < 0.05$)。したがって 6-MP, 6-TG の活性化は CML 細胞群で高率であることが示唆されたわけであるが、更に両薬剤の活性化を示す指標として、両薬剤による HGPRTase 阻害効果の検討をおこなった。マウス白血病細胞を用いて検討すると 6-MP, 6-TG のいずれも HX, Guanine 磷酸化反応を拮抗的に阻害することが明らかとなり、ヒト白血病細胞においても、両薬剤による IMP 産生阻害効果がすなわち薬剤活性化の程度を反映すると考えられる。

0.2mM 6-TG と 2.5mM 6-MP による酵素活性阻害率はほぼ同等であり、しかも病型による阻害率の差異を示さなかった。次に、薬剤による IMP 産生阻害量と HGPRTase 活性との相関をみると、6-MP では CML 細胞群, AL 細胞群ともに良い相関を示し、6-TG では AL 細胞群に相関を示した。薬剤による阻害率は病型による差異がなく、IMP 産生阻害量は HGPRTase に相関することより両薬剤の活性化率は HGPRTase 活性に依存すると推測された。6-TG による IMP 産生阻害量と HGPRTase 活性とは CML 細胞群において相関しなかったが、著者の用いた実験系において HX, PRPP とともに過剰量であり、細胞

膜透過性の因子を考慮しなくてもよいので、結果に最も影響をおよぼしたのは 6-TG の不活性化であろうと思われる。6-TG は Guanase によって Thioxanthine に脱アミノ化された後、Xanthine oxidase によって Thio-uric acid に酸化されることを著者らは既に報告しているが、ヒト白血病細胞 Homogenate と 6-TG とを incubate して得た産生物中にも Thioxanthine が認められることから、6-TG の不活性化は無視できない問題である。したがって 6-TG の臨床効果を推測する為には Guanase 活性の検討が重要であると考ええる。一方、HGPRTase 反応にはもう一つの基質として PRPP の存在が必要であり、細胞内 PRPP 量が HGPRTase 反応を規定していると考えられる。白血病細胞において PRPP 量は成熟細胞に多いと報告されており、この点からも CML 細胞群での 6-MP、6-TG の活性化は AL 細胞群でのそれよりも高いと考えられる。以上の知見を総合すると、6-MP、6-TG の活性化は HGPRTase と細胞内 PRPP とによって規定され、急性非リンパ性白血病細胞群よりも慢性骨髄性白血病細胞群でより強く起り、したがって抗腫瘍効果も強いと考えられた。

論文審査の結果の要旨

6-mercaptopurine (6-MP)、6-thioguanine (6-TG) はともに抗プリン代謝拮抗剤として白血病治療に繁用されている薬剤でありそれぞれ 6-thio-IMP、6-thio-GMP に活性化されて細胞内 Nucleotide pool を減少させることが知られている。そこで著者は両薬剤の活性化に関与する Hypoxanthine-Guanine phosphoribosyl transferase (HGPRTase) 活性を人白血病細胞を用いて検討した。その結果慢性骨髄性白血病細胞群、急性非リンパ性白血病細胞群、正常白血球群の比較により、慢性骨髄性白血病細胞群に高い酵素活性を認めた。一方、マウス白血病細胞を用いた酵素化学的検討では 6-TG は hypoxanthine (HX) から IMP への磷酸化反応を拮抗的に阻害することを明らかにし、また 6-MP も HGPRTase を拮抗的に阻害することが知られていることから、両薬剤の活性化を示す指標として HGPRTase 阻害効果を検討したところ、薬剤による阻害率は病型による差異を認めず、阻害量は酵素活性に相関した。したがって 6-MP、6-TG の活性化は、高い酵素活性を認めた慢性骨髄性白血病細胞群で強く起り、抗腫瘍効果の強いことが示唆された。

以上の研究は、白血病化学療法の基礎的解明に貢献し、造血臓器腫瘍の治療に寄与するところが多い。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。