

平成 30 年 5 月 26 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15503

研究課題名(和文) コレステロール代謝経路攪乱による新しい白血病・リンパ腫治療

研究課題名(英文) Anti-lymphoma therapy targeting cholesterol metabolism

研究代表者

菰原 義弘 (Komohara, Yoshihiro)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・准教授

研究者番号：40449921

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：悪性リンパ腫・白血病細胞株を用いて、細胞増殖におけるコレステロール代謝の重要性を解析した。その結果、悪性リンパ腫・白血病細胞は細胞増殖に際してコレステロールの取り込みが重要であるのに対して、排出経路も重要であることが明らかとなった。排出経路を阻害することで悪性リンパ腫・白血病細胞のアポトーシスを誘導することが出来た。マウスモデルを用いて、コレステロール排出経路阻害剤がIn vivoでも有効であることを確認した。

研究成果の概要(英文)：We investigated if cholesterol metabolism would be important for cell growth in cell lines derived from malignant lymphoma and leukemia. As the result of studies, cholesterol metabolism is critical for cell growth in lymphoma and leukemia cells. Blocking of cholesterol efflux was also found to be important for cell growth, and blocking for cholesterol efflux induced apoptosis of lymphoma and leukemia cells.

研究分野：実験病理学

キーワード：リンパ腫

1. 研究開始当初の背景

コレステロールは細胞膜の構成成分あるいはホルモンの基本骨格として重要な物質である。白血病・リンパ腫も含めた腫瘍細胞の増殖におけるコレステロールの重要性についても周知の通りである。LDL 受容体 (LDL-R)は血液中の LDL を細胞内に取り込むための受容体で、ほとんど全ての細胞に発現しているが、特に悪性腫瘍で発現が増加している。その他、様々なコレステロール代謝分子と悪性腫瘍に関する研究が多数報告されている。しかしながら、これまでコレステロール代謝に作用する様々な薬剤・化合物が開発されてきたものの、悪性腫瘍患者に臨床応用されるほどの抗腫瘍効果を有する薬剤は開発されていない。

2. 研究の目的

本研究では、白血病・リンパ腫細胞におけるコレステロール代謝経路を詳細に解析し、また代謝経路阻害剤の前臨床試験を行った。

3. 研究の方法

培養細胞株を用いて、白血病・リンパ腫細胞株でのコレステロール代謝関連分子の発現を解析するとともに、正常細胞との比較を行う。コレステロールエステルの蓄積に関しても細胞株と正常細胞との比較を行い、腫瘍細胞特異的現象かどうかを検討する。また、マウスモデルを作成して、各種阻害剤の単独での効果や併用療法を比較し、前臨床試験を試みる。抗腫瘍効果と副作用についても検討する。

4. 研究成果

私たちは一部の白血病や悪性リンパ腫症例の腫瘍細胞では細胞内にコレステロールエステルを主成分とする脂肪滴空胞 (中性脂肪ではない) を有していることに注目した (教科書的には Burkitt lymphoma の細胞質内空胞が有名)。数十症例のリンパ節生検スタンプ標本 (ギムザ染色) をレビューしてみると、悪性度の高い成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL) やびまん性大細胞性リンパ腫 (DLBCL) では多くの症例に細胞質内空胞が

認められ (図 1)、更には細胞質内空胞を有する症例では予後が悪い傾向にあった。濾胞性リンパ腫やマントルリンパ腫など低悪性度リンパ腫では、細胞質内空胞の存在は指摘できなかった。培養細胞を用いた研究では、白血病/リンパ腫細胞に過剰なコレステロールを負荷することで細胞質内空胞を形成することができた。このような観察結果から、細胞質内空胞を有する白血病/リンパ腫細胞はコレステロール取り込み・代謝経路が亢進しており、悪性度も高いことが示唆される。実際に、多くの白血病/リンパ腫細胞株では LDLR やコレステロールをエステル化する酵素である Acyl-CoA:cholesterol acyl-transferase (ACAT)、遊離コレステロールの細胞外への排出に関わる膜分子である Scavenger receptor B1 (SR-B1, SCARB1) の発現が亢進していた。

次に ACAT, SR-B1 阻害剤の白血病/リンパ腫細胞株に対する効果を検討したところ、ACAT 阻害剤の効果はやや弱かったものの SR-B1 阻害剤は比較的低濃度でも細胞株に対して増殖抑制効果を示した。更に ACAT 阻害剤との併用効果も認められた。白血病/リンパ腫細胞は細胞増殖過程において多量のコレステロールを取り込むが、その過程で発生する遊離コレステロールには細胞毒性がある。ACAT や SR-B1 は遊離コレステロールを無毒化したり排出するための重要な分子であり、これらの分子を阻害することで細胞内での遊離コレステロールが増加し、細胞死が誘導されたと考えられる (図 2)。これまで、有害な遊離コレステロールを無害なコレステロールエステルに変換する酵素である ACAT やコレステロール合成酵素である hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (HMGR) に対する阻害剤 (スタチン) がある種のがん細胞の増殖や浸潤を抑制できることは知られていたが、その抑制効果は弱く悪性腫瘍治療における臨床応用はされていない。ACAT 阻害剤やスタチンの抗腫瘍作用について注

目している研究は多いが、腫瘍細胞におけるコレステロールの排出経路に注目した研究は殆どなされていない。正常細胞では、コレステロールの取り込みが多くなると Negative Feedback 機構が働き、LDLR の発現が制御されコレステロールの取り込みが抑制される。しかし、腫瘍細胞ではコレステロール取り込みの Negative Feedback 機構が正常に働かないようである。コレステロールの排出経路を阻害するという治療法は、正常細胞にはほとんど影響しないと思われ（マウスへ投与したが無害であった）、副作用の点から見ても画期的な治療法であると思われる。動脈硬化病変ではコレステロールを蓄積したマクロファージが病変の形成に参与する。SR-B1 阻害剤の長期投与により、動脈硬化が進行する可能性があるが、短期間の使用であれば副作用は少ないと考えられる。SR-B1 を阻害する新たな化合物のスクリーニングにも現在取り組んでいる。

図 1：高悪性度リンパ腫における細胞質内空胞形成

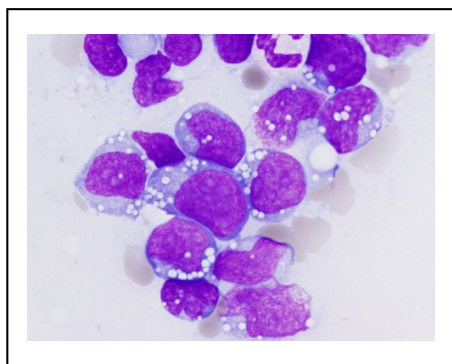
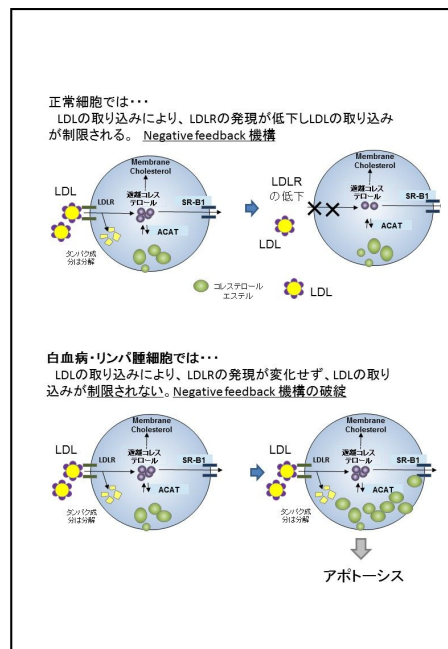


図 2：白血病/リンパ腫細胞のコレステロール代謝異常を利用した新たな治療戦略



5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕(計2件)

菰原義弘(**), 藤原章雄.

コレステロール代謝経路攪乱による新しい白血病・リンパ腫治療. Bio Clinica 32; 80-81, 2017. (査読無し)

菰原義弘(**), 藤原章雄.

コレステロール排出経路阻害による新しい白血病・リンパ腫治療. メディカル・サイエンス・ダイジェスト 43; 378-379, 2017. (査読無し)

〔学会発表〕(計2件)

Yukio Fujiwara, Hasita Horlad, Daisuke Niino, Yutaka Okuno, Kikukawa Yoshitaka, Masao Matsuoka, Motohiro Takeya, Yoshihiro Komohara,

Inhibitory effect on Lymphoma Cell Proliferation by Regulating Cholesterol Metabolism Pathway

THE 1ST MEETING OF THE YONGLIN HEALTHCARE SYMPOSIUM SERIES- "DNA PROCESSES, DRUGS AND CANCER" 2016/11/27-28 National Taiwan University, Taiwan

菰原義弘、藤原章雄、Horlad Hasita、矢野
浩夢、潘程、竹屋元裕

コレステロール排出経路を標的とした新たな
ながん治療戦略

第48回日本臨床分子形態学会総会 2016年
9月23日～24日（くまもと県民交流会館パ
レア、熊本）

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕
出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
[www.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/patho2/
patho2.html](http://www.medic.kumamoto-u.ac.jp/dept/patho2/patho2.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菰原 義弘 (KOMOHARA Yoshihiro)・准教
授

熊本大学大学院生命科学研究部

研究者番号：40449921

(2) 研究分担者

藤原 章雄 (Fujiwara Yukio)・講師

熊本大学大学院生命科学研究部

研究者番号：70452886

(3) 研究分担者

Horlad Hasita (Horlad Hasita)・研

研究員

熊本大学大学院生命科学研究部

研究者番号：00644840

(4) 連携研究者

松岡 雅雄 (Matsuoka Masao)・教授

熊本大学大学院生命科学研究部

研究者番号：10244138

(5) 連携研究者

奥野 豊 (Okuno Yutaka)・准教授

熊本大学大学院生命科学研究部

研究者番号：80363539