

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007-2008

課題番号：19591103

研究課題名 (和文) 白血病細胞の糖代謝特性の解明とそれに基づく新規治療戦略の展開

研究課題名 (英文) Role of glucose metabolism in hematological malignancy

研究代表者

桐戸 敬太 (KEITA KIRITO)

山梨大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：90306150

研究成果の概要：

細胞のエネルギーは、主に糖を基にして産生される。一般に、糖の代謝には酸素が利用されるが、がん細胞では酸素を用いない特殊な形式をとる。この研究では、血液腫瘍を対象として、これらの細胞における糖利用の特徴を明らかにし、新しい治療方法へ結びつけることを目標とした。その結果、悪性リンパ腫細胞では、糖代謝酵素であるヘキソキナーゼの機能を抑制することによって、放射線治療への反応性を増加させることが分かった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：白血病、HIF-1, 糖代謝、Warburg 効果

1. 研究開始当初の背景

多くの癌細胞は、酸素が十分存在する環境においても解糖系を中心としたエネルギー代謝を行なうこと、すなわち Warburg 効果を示すことが知られていた。2006年に、低酸素応答転写因子 HIF-1 がこのがん細胞における糖代謝特性の誘導に関わる事が報告された。一方、2005年には、我々の研究グループが白血病細胞における HIF-1 の活性

化を初めて報告をおこなっている。このような背景のもと、白血病を中心とした造血系腫瘍における糖代謝異常について HIF-1 との関連に焦点をあて研究を開始した。

2. 研究の目的

造血系腫瘍細胞における糖代謝特性、およびその糖代謝特性の誘導・維持に関わるメカニズムとしての HIF-1 の作用を解明す

ることを目的とする。さらに、血液腫瘍細胞の糖代謝特性に関わる分子をターゲットとした分子標的治療の可能性についても検討を行なった。

3. 研究の方法

白血病、多発性骨髄腫および悪性リンパ腫などの血液系腫瘍の株化細胞を用いた。HIF-1 の発現やそれに関わるシグナル伝達分子の活性化については、ウェスタンブロットにより解析を行なった。アポトーシス誘導については、Annexin V 染色を用いて調べた。HIF-1 阻害剤としては、Echinomycin を用いた。また、siRNA を用いて HIF-1 の α サブユニットの発現を抑制したサブクローンを樹立し、解析に用いた。

4. 研究成果

(1) 多発性骨髄腫細胞を用いての解析

① 多発性骨髄腫細胞株では恒常的な HIF-1 の活性化を認めた。また、多発性骨髄腫症例の骨髄検体より CD138 抗体を用いて分離した骨髄腫細胞においても HIF-1 の恒常的活性化が確認された。

② 多発性骨髄腫細胞に対する代表的な増殖因子 IGF-1 を用いて骨髄腫細胞株を刺激すると、AKT および MAPK 依存性に HIF-1 の α サブユニットの発現上昇がみられた。

③ 多発性骨髄腫細胞株において、siRNA を用いて HIF-1 α の発現を抑制することにより、多発性骨髄腫に対して用いる代表的な抗がん剤であるメルファランに対する感受性が増強した。

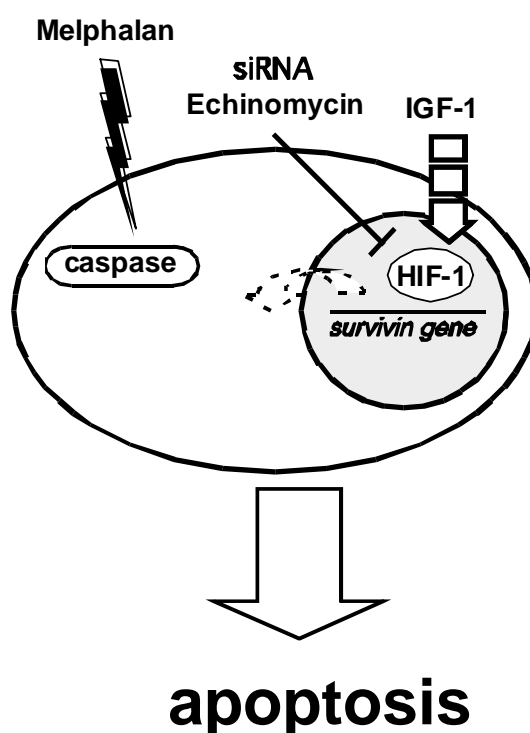
④ HIF-1 の DNA 結合を抑制し、その機能を抑制することが知られている Echinomycin は多発性骨髄細胞のメルファランに対する感受性を増加させた。

⑤ さらに、多発性骨髄腫症例由来の CD138 陽性骨髄腫細胞を用いて解析を行ったところ、Echinomycin によりメルファランのアポトーシス誘導効果が増強することが確認された。

⑥ IGF-1 は、多発性骨髄腫細胞のメルファランによるアポトーシス誘導を抑制する効果を持つ。しかし、siRNA あるいは echinomycin により HIF-1 の機能を抑制することにより、そのアポトーシス抑制効果が失われることが確認された。

⑦ 多発性骨髄腫細胞において、HIF-1 により制御される分子についても検索を進めた。その結果、HIF-1 に対する siRNA あるいは echinomycin を用いた場合には、抗アポトーシス作用を持つ IAP ファミリー蛋白の一員である Survivin の発現が特異的に抑制されることがわかった。

以上の研究結果より、HIF-1 は survivin の発現を制御することにより多発性骨髄腫の生存および IGF-1 を介する薬剤耐性獲得にも関与していることが示唆された。(下図)



(2) 悪性リンパ腫細胞を用いての解析

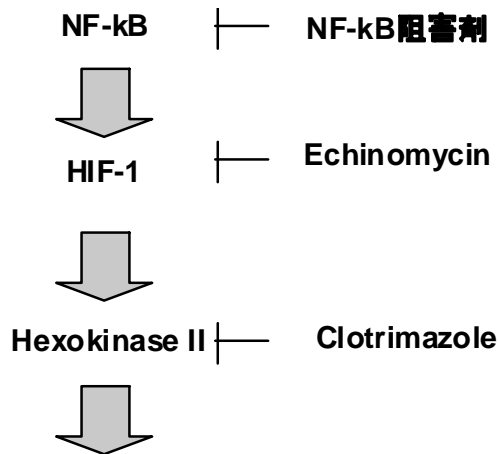
① 悪性リンパ腫細胞株において、恒常的な NF- κ B の活性に依存して HIF-1 の発現誘導および活性化がみられることを確認した。

② また、これらの細胞に対して放射線処理を行なうと NF- κ B のさらなる活性化とそれに伴った HIF-1 の活性化が見られた。

③さらに、活性化された HIF-1 に依存して解糖系酵素である Hexokinase II の発現が上昇することがわかった。

④HIF-1 阻害剤 Echinomycin あるいは Hexokinase II 阻害剤 clotrimazole を用いることにより、放射線処理後のリンパ腫細胞のアポトーシスが促進されることが分かった。

すなわち、悪性リンパ腫細胞においては NF-κB 依存性に HIF-1 が活性化を受け、これに伴い糖代謝酵素である Hexokinase II の発現が上昇することが分かった。さらに、HIF-1 あるいはその下流の分子である Hexokinase II の機能を抑制することにより、悪性リンパ腫に対する放射線治療の効果を増強させることが示唆された。(下図)



糖代謝活性亢進 抗アポトーシス効果

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 6 件)

1. Yoshida K, Kirito K, Yongzhen H, Ozawa K, Kaushansky K, Komatsu N. Thrombopoietin (TPO) regulates HIF-1α levels through generation of mitochondrial reactive oxygen species.

International journal of hematology 2008; 88:43-51. 査読有り

2. Kirito K, Sakoe K, Shinoda D, Takiyama Y, Kaushansky K, Komatsu N. A novel RUNX1 mutation in familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies. Haematologica 2008; 93:155-6. 査読有り

3. Akutsu M, Tsunoda S, Izumi T, Kirito K (18 人中 14 番め). Long-term results of dose-intensive chemotherapy with G-CSF support (TCC-NHL-91) for advanced intermediate-grade non-Hodgkin's lymphoma: a review of 59 consecutive cases treated at a single institute. Oncology research 2008; 17:137-49. 査読有り

4. Uchida M, Kirito K, Endo H, Ozawa K, Komatsu N. Activation of FKHL1 plays an important role in protecting erythroid cells from erythropoietin deprivation-induced apoptosis in a human erythropoietin-dependent leukemia cell line, UT-7/EPO. International journal of hematology 2007; 86:315-24. 査読有り

5. Kikuchi S, Nagai T, Kunitama M,
Kirito K, Ozawa K, Komatsu N.

Active FKHRL1 overcomes
imatinib resistance in chronic
myelogenous leukemia-derived
cell lines via the production of
tumor necrosis factor-related
apoptosis-inducing ligand.
Cancer science 2007;
98:1949-58.

査読有り

6. Furukawa Y, Vu HA, Akutsu M,
Kirito, K (11人中8番目).

Divergent cytotoxic effects of
PKC412 in combination with
conventional antileukemic agents
in FLT3 mutation-positive versus
-negative leukemia cell lines.
Leukemia 2007; 21:1005-14.

査読有り

[学会発表] (計 2 件)

1. Kirito K, Yoshida K, Hu Y, Qiao
Q, Sakoe K, Komatsu N. HIF-1
Prevents Hematopoietic Cells
from Cell Damage by
Overproduction of Mitochondrial
ROS after Cytokine Stimulation
through Induction of PDK-1. 第
50回米国血液学会、2008. 12. 7, San
Francisco

2. Kirito K, Yongzhen H, Yoshida K, et
al. HIF-1 Supports the Survival of
Multiple Myeloma Cells through the
Induction of Survivin Gene. 第49回
米国血液学会、2007. 12. 9 Atlanta

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桐戸 敬太 (KEITA KIRITO)

山梨大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号:90306150

(2) 研究分担者

小松 則夫 (NORIO KOMATSU)

山梨大学・大学院医学工学統合研究部・教授

研究者番号:50186798

(3) 連携研究者

なし