学 位 論 文 内 容 要 旨

論文題目

Role of catalase in monocytic differentiation of U937 cells by TPA: hydrogen peroxide as a second messenger
（TPA 投与による単球系細胞株 U937 細胞の分化におけるカタラーゼの役割：細胞内伝達物質としての過酸化水素の役割）

指導（紹介）教授： 山 川 光 徳

申 請 者 氏 名 ： 山 本 哲 生

【内容要旨】

【目的】マクロファージ等の貪食細胞が異物を貪食したり、抗腫瘍活性を示す上で、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS)の産生は重要である。しかし、造血細胞の分化における ROS の役割については十分に解明されていない。本研究では、マクロファージの分化における ROS 産生の役割について検討した。
【方法および結果】ヒト前単球系細胞株 U937 細胞を 12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetat (TPA)で処理すると、細胞表面分化マーカーである CD11b と CD36 が発現し、貪食能も上昇することを確認した。TPA 処理した U937 細胞では、これらの分化マーカーの発現に伴い、ROS の産生が増加した。抗酸化物質である N-acetyl-L-cysteine 存在下では、TPA による U937 細胞の分化が阻害され、ROS がマクロファージの分化において重要であることが示唆された。そこで、ROS の消去に関連する抗酸化酵素の発現について Western blot 法と Northern blot 法で調べた。その結果、TPA 処理した U937 細胞では H_2O_2 を H_2O と O_2 に変える酵素である catalase が減少した。一方、superoxide (O_2^-)を H_2O_2 と O_2 に変える酵素である manganese superoxide dismutase (MnSOD)は増加した。Copper/zinc superoxide dismutase (CuZnSOD)や glutathione peroxidase (GSH-Px1)の発現には変化がなかった。Catalase で U937 細胞を前処理すると、TPA で誘導される ROS 産生の増加が抑制された。この時、CD11b の発現や貪食能の上昇も抑制された。すなわち、catalase を加えると TPA による U937 細胞の分化誘導が阻害される事が示された。
U937 細胞と同様に、ヒト前骨髄球系細胞株 HL60 細胞を TPA で処理するとマクロファージへの分化が誘導される。HL60 細胞の変異細胞株である HP100-1 細胞は、catalase を HL60 細胞の 6 倍以上も高発現しており、その他の抗酸化酵素である MnSOD、CuZnSOD、GSH-Px1 の発現量には差がみられない。高濃度の H_2O_2 を添加する実験から、HP100-1 細胞は catalase を高発現する故に H_2O_2 処理能が高く、細胞内に H_2O_2 を蓄積し難い状態にある事が分かった。この HP100-1 細胞は TPA 処理による分化誘導に対して高い抵抗性を有していた。
【結語】本研究では、catalase が TPA による単球系分化を抑制したことから、catalase の減少とその結果起こる細胞内 H_2O_2 の蓄積が、TPA によって誘導されるマクロファージ分化において重要である事を明らかにした。

（1，２００字以内）

平成 21 年 2 月 1 日

山形大学大学院医学系研究科長　殿

学 位 論 文 審 査 結 果 報 告 書

申請者氏名：　山本　哲生

論文題目：単球系細胞株 U937 細胞の、TPA 投与による分化におけるカタラーゼの役割

審査委員：主審査委員　加藤丈夫　㊞

副審査委員　一瀬白帝　㊞

副審査委員　藤井順逸　㊞

審査終了日：平成 21 年 2 月 1 日

【論 文 審 査 結 果 要 旨】

マクロファージ等の貪食細胞の機能において、活性酸素種（ROS）の産生が重要であることはよく知られている。しかし、マクロファージの分化において ROS 産生がどのような役割を演じているかについては不明な点が多い。その点を明らかにするため、山本哲生氏は以下の実験を行った。

ヒト前単球系細胞株 U937 細胞は、12-*O*-tetradecanoylphorbol-13-acetate（TPA）によりマクロファージ様細胞に分化誘導される。U937 細胞を TPA で処理すると、細胞表面分化マーカーである CD11b と CD36 の発現が増加し、貪食能も上昇した。TPA 処理した U937 細胞ではこれらマーカーの発現に伴い、ROS の産生が増加した。抗酸化物質である N-acetyl-L-cysteine（NAC）存在下では TPA による U937 細胞の分化が阻害され、ROS がマクロファージ分化において重要であることが示唆された。そこで、ROS の消去に関連する抗酸化酵素の発現について調べた。その結果、TPA 処理した U937 細胞では H_2O_2 を H_2O と O_2 に変える酵素である catalase が減少した。一方、superoxide を H_2O_2 と O_2 に変える酵素である MnSOD は増加していた。CuZnSOD や GSH-Px1 の発現変化は見られなかった。Catalase で U937 細胞を前処理すると、TPA により誘導される ROS 産生の増加は抑制された。この時、CD11b の発現増加や貪食能の上昇も抑制された。すなわち、catalase を加えると TPA による U937 細胞の分化誘導が阻害される事が示された。以上の結果より山本哲生氏は、catalase の減少とその結果起こる細胞内 H_2O_2 の蓄積が、TPA によって誘導されるマクロファージ分化において重要であると結論した。

本研究には新知見も含まれており、結果の考察も適切であった。したがって、審査委員会では本研究は学位（医学博士）の授与に値すると判断した。

（1，２００字以内）