

氏名	矢 吹 宗 久
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	医 学
学位授与番号	博甲第 1844号
学位授与の日付	平成11年3月25日
学位授与の要件	医学研究科病理系細胞工学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文題目	RESISTANCE TO NITRIC OXIDE-MEDIATED APOPTOSIS IN HL-60 VARIANT CELLS IS ASSOCIATED WITH INCREASED ACTIVITIES OF Cu, Zn-SUPEROXIDE DISMUTASE AND CATALASE (一酸化窒素誘導性アポトーシスに対するHL-60 変異株の 耐性は、Cu, Zn-スーパーオキシドディスムターゼおよび カタラーゼの活性上昇と関連する)
論文審査委員	教授 岡田 茂 教授 難波 正義 教授 小川 紀雄

学位論文内容の要旨

一酸化窒素(NO)は、前骨髄球性白血病細胞HL-60の呼吸を阻害し、その後アポトーシスを誘導する。このメカニズムを明らかにするため、NO耐性株の分離と解析を行なった。親株であるHL-60をNO発生剤で断続的に処理し、限外希釈により変異株HL-NR6を分離した。HL-NR6はHL-60に比べ、DNA断片化・形態・コロニー形成で有意に高いNO耐性を示した。スーパーオキシドや過酸化水素など活性酸素種に対しても耐性を示したことから、細胞内の抗酸化酵素の活性を測定した結果、Cu,Zn-スーパーオキシドディスムターゼ(SOD)とカタラーゼが約2倍に上昇しており、Mn-SODとグルタチオンペルオキシダーゼは変化していないことが明らかになった。ウェスタンブロット解析でも、Cu,Zn-SODとカタラーゼが増加していることを確認した。これに関連して、NO処理後の細胞内活性酸素生成量が、HL-60に比べHL-NR6では有意に低く抑えられていることが、蛍光プローブを用いた解析より明らかとなった。さらに、細胞膜透過性SOD様化合物やカタラーゼの添加は、NOによるHL-60のDNA断片化を有意に低く抑えることも明らかとなった。以上より、HL-NR6のNO耐性獲得には上昇したCu,Zn-SODとカタラーゼが貢献しており、HL-60のNOによるアポトーシスには活性酸素やその代謝産物であるパーオキシナイトライドの生成が関与していることを示唆した。

論文審査結果の要旨

本研究は、HL-60細胞の一酸化窒素(NO)によるアポトーシス機構を明らかにする目的で、HL-60細胞とそのNO耐性株HL-NR6細胞について実験を行ったものである。両細胞株を比較したところ、HL-NR6細胞ではCu, Zn-スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)とカタラーゼ活性がHL-60細胞の約2倍上昇していることが判明した。さらに、HL-60細胞においても、培養液中に細胞膜透過性SOD様化合物、カタラーゼの添加において、NO誘導DNA断片化を有意に低く抑えることが明かとなった。これらのデータは、NOによるアポトーシスには活性酸素やその代謝産物であるパーオキシナイトライドが関与していることを示唆した。

本研究は、NO誘導アポトーシスにおける、活性酸素の役割を見出したものとして重要な知見を得たものである。よって本研究は博士(医学)の学位を得る資格があると認める。