

平成24年4月2日提出

対象研究テーマ：in vitro がん幹細胞モデル系の開発に関する研究

研究期間：2011年4月1日～2012年3月31日

研究題目：SMS抑制による細胞死誘導セラミド・シグナル増強を介したRb遺伝子欠損マウスにおけるリンパ腫発症機構の制御

研究代表者：金沢医科大学血液免疫内科学 教授 岡崎俊朗

研究成果の概要：

スフィンゴ脂質セラミドを介した細胞死誘導が、Rb遺伝子欠損状態で発症する腫瘍に対して抗腫瘍効果を持つかについて検討したが、Rb欠損KOマウスにおける腫瘍発症効率の低さとSMS1-KOマスの出生率の低さによって、当初予想した、セラミド産生増加によってRb欠損時の腫瘍に対して抗腫瘍効果を認めるかについては、最終的な結論が出ず、今後の実験モデルの再構築が必要となる。

研究分野：脂質生物学、脂質腫瘍学

キーワード：スフィンゴ脂質、発癌機構

## 1. 研究開始当初の背景

申請者は、スフィンゴ脂質セラミドは細胞死誘導脂質として、細胞膜の解剖学的成分として機能するのみでなく細胞機能を制御するメディエーターであることを報告した(Okazaki T., et al. *J. Biol. Chem.*, 264: 19076-19080, 1989)。スフィンゴ脂質セラミドの調節機構として産生系であるスフィンゴミエリン(SM)加水分解酵素スフィンゴミエリナーゼ(SMase)そして代謝系であるSM産生酵素(SMS)とグルコシルセラミド産生酵素(GCS)が知られており、これらを介したセラミド・シグナル制御機構を“セラミド・パイオスタット”と呼んでいる。これまで様々な細胞死誘導刺激によってSMaseの活性化とSMSの抑制が誘導され、セラミドが増加することで細胞死が惹き起こされることが知られている。申請者は、近年、SMSの遺伝子クローニングに成功して(Yamaoka S., Miyaji M., Kitano T., Umehara H., and Okazaki T. *J. Biol. Chem.*, 279, 18688-93, 2004), SMSの機能制御の解析により腫瘍細胞の生死におけるセラミドの意義について明らかにする研究を進めている。

## 2. 研究の目的

本共同研究の課題として ataxia telangiectasia mutated (ATM) 遺伝子欠損による腫瘍発生時のセラミド・シグナルの関与を申請し検討した。ATM欠損マウスに p16/Ink4a 欠損マウスを交配することでダブル KO マウスを作成し悪性リンパ腫発生を試みたが、発生効率が非常に低く、このダブル

KOマウスにSMS1-KOマスを掛け合わせて、トリプルKOマウスを作成することが困難なことが判明した。その後、マウス腫瘍発生モデルとしてRb遺伝子欠損マウスにおいて、効率的に腺癌が発症するモデルを作成できたため、今後、このマウスの系に関してSMS1欠損マウスを掛け合わせることで、セラミド産生の抑制が誘導され腺癌腫瘍細胞の増大を阻害できるかについて検討する。

## 3. 研究の方法

- (1) Rb欠損細胞におけるセラミド・シグナルの変化
- (2) Rbノックアウトマウスの作成とその予想表現型
- (3) SMSまたは2-KOマウスとRb-KOのダブルKOマウスの作成とRb欠損腺癌発症におけるSMS欠損によるセラミド産生増強の影響を検討
- (4) SMS/RbダブルKOマウス由来MEFを用いてセラミド産生機構の分子制御の検討

## 4. 研究成果

Rb欠損細胞では、セラミド産生機構が抑制されており、Rb-KOマウスにおける腺癌発症にセラミド/スフィンゴミエリン系の関与が示唆させる。Rb-KOマウスでの腫瘍形成にSMS1-KOマウスを掛け合わせて、SMS抑制によるセラミド増加による抗腫瘍効果を検討する予定であった

が、SMS1-KOマウスが発症率、生存率ともに非常に脆弱で有り、解析できる個体数を得ることができなかった。したがって、今後のマウスKO個体の増加によって、Rb欠損状態による腫瘍増生をSMS1欠損が抑制するかについて結論を出す必要がある。

#### 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5件)

1. Elodie Lafont, Kazuyuki Kitatani, Bruno Ségur and Toshiro Okazaki Regulation of death and growth signals at the plasma membrane by sphingomyelin synthesis: implications for hematological malignancies. Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery 6(3):324-33, 2011

2. Mitsutake S., Zama K., Yokota H., Yoshida T., Tanaka M., Mitsui M., Tanaka T., Yamashita T., Takemoto H., Okazaki T., Watanabe K., and Igarashi Y. Sphingomyelin synthase 2 is responsible for obesity and lipid droplet formation in liver and is a novel regulator of membrane microdomain. J. Biol. Chem. 12,286(32):28544-55, 2011

3. Abdel Shakor A.B., Taniguchi M., Kitatani K., Hashimoto M., Asano A., Bielawski J., Bielawska A., Watanabe K., Kobayashi T., Igarashi Y., Umehara H., Tkaekya H. and Okazaki T. SMS1-generated sphingomyelin plays an important role in transferrin trafficking and cell proliferation. J. Biol. Chem., 286(41):36053-62., 2011

4. Yano M., Watanabe K., Yamamoto T., Ikeda K., Senokuchi T., Lu M., Kadomatsu T., Tsukano H., Ikawa M., Okabe M., Yamaoka S., Okazaki T., Umehara H., Gotoh T., Song W-J., Node K., Taguchi T., Yamagata K. and Oike Y. Mitochondrial dysfunction and increased reactive oxygen species impair insulin secretion in sphingomyelin synthase 1 null mice. J. Biol. Chem, 286(5); 3992-4002, 2011

5. Fujiwara K., Kitatani K., Fukushima K., Yazama H., Kikuchi M., Igarashi Y., Kitano H., and Okazaki T. Inhibitory effects of dietary glucosylceramide on squamous cell carcinoma of the head and neck in NOD/SCID mice. Int. J. Clin. Oncol. 16(2):133-40, 2011

[学会発表] (計2件)

1. Okazaki T., Role of SMS in cell proliferation and migration.-transferrin traffic and CXCL12/CXCR4 system- Naito International Symposium, Sapporo, Japan, June 28-July , 2011 (invited)

2. Okazaki T., Asano S., Kitatani K., Taniguchi M., Hashimoto M., Zama K., Mitsutake S., Igarashi Y., Kiyokawa E., Matsuda M., Takeya H., ICBL, Warsaw, Sep. 2011

[図書] (計1件)

セラミド：基礎と応用(食品化学新聞社)セラミドの細胞内機能概論-スフィンゴリエリン合成酵素ファミリー、北谷和之、岡崎俊朗、50-55, 2011

セラミドとがん、岡崎俊朗、セラミド：基礎と応用、171-179, 2011

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

なし

#### 6. 研究組織

(1)研究代表者

鳥取大学医学部・教授、金沢医科大学血液免疫内科学・教授 岡崎俊朗

(2)研究分担者

鳥取大学医学部付属病院・助教 北谷和之  
鳥取大学医学部・研究員 谷口真  
鳥取大学医学部・研究員 橋本真由美  
鳥取大学医学部・研究員 浅野智志

(3)本研究所担当者

腫瘍分子生物学・教授 高橋智聡