



Title	Dose-rate effectiveness and potentially lethal damage repair in normal and double-strand-break repair deficient murine cells by γ -rays and 5-fluorouracil
Author(s)	李, 利亜
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40730
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	李 利 亜
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 6 9 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平成10年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学 位 論 文 名	Dose-rate effectiveness and potentially lethal damage repair in normal and double-strand-break repair deficient murine cells by γ -rays and 5-fluorouracil (正常および DNA 二重鎖切断修復能欠如マウス細胞での γ 線と 5-FU による線量率効果と潜在致死損傷修復)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 野村 大成 (副査) 教 授 井上 俊彦 教 授 黒川 信夫

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

SCID (severe combined immunodeficiency) 遺伝子を homo に持つマウスは、T、B細胞機能を欠き重度な先天性の免疫不全を起こす。さらに、放射線に対しても高感受性を示すことが知られている。一つの遺伝子により同時に相異なる表現型を示すその原因としては、DNA の二重鎖切断時の再結合に不備を起こすため、免疫系では V (D) J 組み換えができなくなり、放射線では二重鎖切断の修復ができなくなるためとされている。このような変異を持つ細胞の放射線へ線量率効果、放射線と 5-FU (5-fluorouracil) 損傷からの回復能を調べるために C.B17-scld/scld および C.B17+/+マウスの胎児から樹立された SCID 遺伝子座のみ異なる 2 種類の細胞株 (SCID 細胞と正常細胞) を用いて実験を行った。

【方法】

Confluent 期の SCID 細胞と正常細胞それぞれに 0, 1, 2, 2.5, 3, 4 Gy の ^{137}Cs - γ 線を高線量率 (1.105Gy/min) および低線量率 (0.00069Gy/min=1Gy/day) で照射した。照射後、それぞれの細胞を 60mm シャーレに 100 細胞ずつ播種して培養後、形成されたコロニー数をカウント、その後、二つの細胞株間での生存率を比較した。また、confluent 期の細胞に 24 時間間隔の 2 分割照射後あるいは、高線量率に続く 24 時間回復処理後に細胞播種を行い、二つの細胞株におけるそれぞれの分割照射効果および潜在致死損傷の回復を調べた。

さらに、2 種類の細胞株を DNA 二重鎖切断をおこすとされている 5-FU (0, 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で高濃度短時間 (1 時間) 処理後培養による生存率、また、低濃度 5-FU (0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ =1.25 $\mu\text{g}/\text{dish}$) 培養液で長時間処理 (0, 1, 3, 6 日) による生存率を調べて回復能を比べた。生存率の求める方法は γ 線照射実験と同じであった。

【成績】

1) 照射の 2 分割効果

正常細胞および SCID 細胞に総線量 0, 2, 4 Gy (SCID では 0, 2, 3 Gy) ^{137}Cs ガンマ線 (1.105Gy/min) を 24 時間間隔で 2 分割照射した結果、正常細胞群の細胞生存率は一回照射群の生存率より有意 ($p<0.001$) に高かった。

SCID 細胞群では 2 分割照射の細胞生存率は、一回照射群と差がなく、照射の分割効果が全く認められなかった。

2) 24時間の回復処理効果（潜在致死損傷の回復）

^{137}Cs ガンマ線 ($1.105\text{Gy}/\text{min}$) 照射後、24時間の回復処理を行った正常細胞群の細胞生存率は、回復処理を行わなかった群より有意 ($p<0.001$) に生存率が高かった。

一方、回復処理を行った SCID 細胞群では細胞生存率が、回復処理を行わなかった群と差がなく、回復効果が全く認められなかった。

3) 線量率効果

高線量率 ($1.105\text{Gy}/\text{min}$) ^{137}Cs ガンマ線の 0, 1, 2, 4 Gy (SCID 細胞では 0, 1, 2, 3 Gy) 照射での細胞生存率は、正常細胞でそれぞれ、100%, 57.2%, 22.2%, 12.9%, SCID 細胞で 100%, 25.8%, 8.5%, 0.7% であった。

一方、低線量率 ($0.00069\text{Gy}/\text{min}=1\text{Gy}/\text{day}$) 0, 1, 2, 3 Gy 照射群では、正常細胞でそれぞれ 100%, 81.1%, 63.9%, 36.3%, SCID 細胞で 100%, 54.5%, 25.1%, 15.5% と SCID 細胞では 2 分割効果、24時間の回復処理効果が欠如しているにもかかわらず、正常細胞および SCID 細胞いずれの細胞株でも低線量率ガンマ線照射群の方が有意に生存率が高かった。

4) 5-FU への感受性

5-FU の高濃度 1 時間（短時間）処理、または低濃度による長時間処理 ($0.25\mu\text{g}/\text{ml}$, 0, 1, 3, 6 日間処理) いずれにおいても、SCID 細胞の方が、正常細胞より高度に有意な 5-FU 高感受性を示した。

【総括】

- 1, γ 線に対し SCID マウス細胞では潜在致死損傷修復を欠如していることを初めて証明した。
- 2, 線量率効果は正常細胞株にあるだけではなく、SCID 細胞株にも明確に認められた。
- 3, この結果から、線量率効果は DNA 二重鎖切断の修復によるだけではなく、低線量率放射線照射では細胞内イオン化密度の差等の要因によることを証明した。

論文審査の結果の要旨

SCID (severe combined immunodeficiency) マウスは、T, B 細胞機能を欠き重度な先天性の免疫不全を起こすのみならず、放射線に対しても高感受性を示す。それは放射線による二重鎖切断の修復ができないためとされている。本研究は SCID マウス (C.B17-scid/scid) および野生型マウス (C.B17 $^{+/+}$) の胎児から樹立した繊維芽細胞培養株を用い、高線量率 ($1.105\text{Gy}/\text{min}$) および低線量率 ($0.00069\text{Gy}/\text{min}$) の γ -線に対する SCID 細胞の照射後の修復、即ち、潜在致死損傷修復と線量率効果を調べている。高線量率照射により、SCID 細胞は正常細胞に比べて有意に高い放射線感受性を示した。正常細胞株では分割照射効果も、24時間後の回復（潜在致死損傷修復）効果も認められたが、SCID 細胞株では、分割照射効果がなく、また、潜在致死損傷修復もないことを初めて証明した。また、5-fluorouracil (5-FU) 対しても、SCID 細胞株は正常細胞株に比べて非常に高感受性を示した。即ち、5-FU の致死作用は DNA 二重鎖切断によることも証明している。

本研究の最も重要な発見は線量率効果、即ち、低線量率照射による致死の減少が正常細胞株のみならず、SCID 細胞株にも明確に存在することを証明したことである。SCID 細胞株における線量率効果の存在は、線量率効果は従来より考えられてきた DNA 二重鎖切断の修復によるのみならず、他の要因、即ち、イオン化密度等物理学的要因と二重鎖切断修復にもよることを示した。この成果は、放射線のヒトへのリスク推定および治療に重要な知見となり、学位に値するものと認める。