The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Cell-cycle-controlled radiation therapy was effective for treating a murine malignant melanoma cell line in vitro and in vivo
Author(s)	大谷, 啓祐
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61589
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	大谷　啓祐
論文題名 Title	**Cell-cycle-controlled radiation therapy was effective for treating a murine malignant melanoma cell line in vitro and in vivo** (細胞周期を制御した放射線治療はマウス悪性黒色腫株の治療にin vitroとin vivoで有効であった)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

放射線治療は様々な難治性の悪性腫瘍の治療に用いられているが、その効果は標的とする癌細胞の細胞周期に依存することが知られている。したがって放射線治療を行うに当たって、細胞周期を制御した治療法を確立することは重要であると考えられる。我々は一般的なマウス悪性黒色腫細胞株であるB16BL6を用いて放射線感受性の高い細胞周期を同定し、さらに細胞周期を同調することによって治療効果を増強することを目的とした。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

B16BL6にfluorescent ubiquitination-based cell-cycle indicator (Fucci)として知られるプローブを導入し、G0/G1期に赤、early S期に黄色、late S/G2/M期に緑を呈色する株を樹立した。Cell Sorterを用いることで、放射線照射したB16BL6 Fucci細胞を1細胞ずつ色別に分け2週間培養することで生存するコロニーの割合を比較したところ、early S期で有意に細胞生存が低下していた。したがって、この細胞はearly S期に放射線感受性が高いことが判明した。次に、細胞周期をearly S期に同調させる薬剤としてgemcitabineを用いたところ、ほぼすべての細胞をearly S期に同調できることが確認された。In vitroにおいてgemcitabineで細胞周期を同調した細胞に放射線照射を行うと、放射線照射・gemcitabineの各々の細胞傷害効果は確認されたが、両者の相乗効果も統計学的な検定で確認された。In vivoでも同様の効果が得られるか確認する為に、Fucci株をB16BL6の由来となったC57BL/6Jマウスの腹部に移植して皮下腫瘍を作成し、gemcitabineを投与後の皮下腫瘍の蛍光を2光子励起顕微鏡で観察した。Gemcitabine投与しない状態では60%程度の細胞がS/G2/M期にあったが、投与後12-18時間後の皮下腫瘍は90%の細胞がS/G2M期にあり、それ以後は割合が低下した。次にgemcitabine投与後12時間目で放射線治療したマウス（同調群）の皮下腫瘍を、放射線照射後にgemcitabineを投与したマウス（非同調群）と比較した。すると、同調群の皮下腫瘍の大きさは非同調群と比較して有意に増殖が抑制された。

〔総　括(Conclusion)〕

Fucciを用いて1細胞レベルで放射線感受性を検討したところ、early S期で感受性が高いことが判明した。Gemcitabineを用いて細胞周期をearly S期に同調することで相乗効果が得られることがin vitroでもin vivoでも示された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　大谷　啓祐

		（職）	氏　　名
論文審査担当者	主　査	大阪大学教授	小川 和彦
	副　査	大阪大学教授	藤堂 剛
	副　査	大阪大学教授	片山 一朗

論文審査の結果の要旨

放射線照射の効果が細胞周期に影響を受けることは50年以上前から知られていた。これまで細胞の種類によっての違いは報告されてきたが、細胞株であっても細胞周期の長さにはばらつきがあるためにG0/1期に長くとどまった細胞とDNA合成を開始した直後の細胞の違いを評価することは困難であった。近年進歩してきた蛍光標識の技術によって、生きている細胞の細胞周期を可視化することが可能になった。本論文ではその技術を利用して1細胞レベルで解析することにより、DNA合成を開始した直後の細胞の放射線感受性がG0/1期の細胞と明瞭に異なって高いことを同定した初めての報告である。また、細胞周期を同調させる薬剤としてGemcitabineを用いたが、本論文ではG0/1期の細胞とS期早期細胞の区別が可能であるために、非常に高い効率で細胞周期をS期早期に同調できることも新たに判明した。さらに、放射線感受性の高い細胞周期に腫瘍を同調させることで放射線治療の効果を増強できることをin vitro, in vivoの双方で明瞭に示した。この成果は今後の癌治療の発展の礎となる新たな知見を含んだ報告であり、学位に値するものと認める。