

Title	細胞における放射線効果の解析にむけたX線マイクロビームシステムの開発
Author(s)	口丸, 高弘
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/855">https://hdl.handle.net/11094/855</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	くち まる たか ひろ 口 丸 高 弘
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学位記番号	第 2 2 9 6 0 号
学位授与年月日	平成 21 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 工学研究科電気電子情報工学専攻
学位論文名	細胞における放射線効果の解析にむけた X 線マイクロビームシステムの 開発
論文審査委員	(主査) 教授 飯田 敏行 (副査) 教授 粟津 邦男 教授 田中 和夫 教授 上田 良夫 教授 兒玉 了祐 教授 三間 閑興 教授 實野 孝久 准教授 村田 勲

## 論文内容の要旨

本論文は、細胞における放射線効果の解析にむけた X 線マイクロビームシステムの開発についてまとめたものである。

第 1 章では、X 線マイクロビームの重要性と課題について述べている。X 線マイクロビームを用いることによって、特定の単一細胞に放射線を照射することが可能となり、DNA 損傷に伴う細胞死や突然変異を誘発することが出来ることを提案している。また、他のマイクロビーム施設と比較して、卓上型の X 線マイクロビーム照射装置の開発の重要性について示している。さらに、X 線マイクロビーム照射実験に電子デバイス工学技術を導入することで、細胞照射実験での特殊な条件や高い解析効率が得られる可能性について示している。

第 2 章では、単一細胞を選択的に照射する卓上型の X 線マイクロビーム照射装置を開発した。開発したシステムは、主にマイクロフォーカス X 線管、X 線集光素子のガラスキャピラリと倒立型レーザー顕微鏡によって構成されている。最大電圧 50 kV のマイクロフォーカス X 線で生成された X 線光源をガラスキャピラリによって、大気圧下で集光させて、直径約 10  $\mu\text{m}$  の X 線マイクロビームを得た。電動型照射ステージとレーザー顕微鏡観察システムによって、X 線マイクロビームを正確に単一細胞に照射することが出来る。そして、X 線マイクロビームの特性を正確に評価するために、蛍光 X 線分析法を組み合わせたビーム計測法を行い、X 線マイクロビームのエミッタンスについて評価している。

第 3 章では、ガラスキャピラリによる X 線の集光条件と、光子・電子輸送モンテカルロ計算コードを組み合わせた X 線マイクロビームの輸送シミュレーションコードを開発した。開発したシミュレーションコードを用いて、単一細胞の X 線マイクロビームによる照射線量について解析した。特に、細胞核程度の大きさの照射ターゲットでは、X 線と物質の相互作用によって生成する 2 次電子のエネルギー損失まで正確に評価する必要が明らかとなった。開発した X 線マイクロビーム照射装置を用いた場合では、単一細胞に対して最大 0.3 Gy/s の吸収線量率のエネルギー付与が見積もられ、DNA 損傷に伴う細胞死や突然変異を誘発するための放射線線量条件を満たしていることを示した。

第 4 章では、個々の細胞をマイクロピット内に格納するための細胞培養チップを、電子デバイス工学技術を用いて開発した。細胞培養チップは紫外線感光性樹脂をリソグラフィによって作製され、マイクロピットの大きさ

は 50  $\mu\text{m}$  で深さ 15  $\mu\text{m}$  となっており、1 個の細胞のみが格納できる大きさとなっている。また、通常の細胞実験と同様に細胞培養や抗体プローブを用いた検査を行うことが可能である。さらに、細胞を基板に選択的に接着するための細胞外マトリックスをマイクロサイズの分解能で印刷する技術を開発した。この技術によって製作された培養ディッシュを用いることで、培養細胞の位置を正確に制御することが出来た。

第 5 章では、開発した細胞培養チップを用いて X 線マイクロビーム照射実験をおこなった。X 線マイクロビームが照射された培養細胞 PC12 では、 $\gamma\text{-H2AX}$  抗体を用いて DNA 損傷を調べ、照射細胞のみに抗体反応が発現していることを確かめた。また、照射後の時間経過に伴い、DNA 損傷に修復が見られることが判り、特定のたんぱく質 IL-6 の産生についても発見した。これらの細胞照射実験によって、X 線マイクロビームシステムが単一細胞の放射線照射効果の研究において有効であることを示した。

第 6 章では、本研究から得られた知見を総括し、結論を述べている。

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、細胞の照射効果研究のために開発した X 線マイクロビーム照射システムとその応用についての研究成果をまとめたものであり、得られた成果を要約すると以下の通りである。

- (1) マイクロフォーカス X 線管に最適に設計製作した集光用ガラスキャピラリを付加することにより、単一細胞を約 10  $\mu\text{m}$  の X 線ビームで照射しながら顕微鏡観察ができるシステムを開発している。
- (2) X 線集光用ガラスキャピラリ内の X 線輸送計算により、細胞照射位置での X 線ビームプロファイルをほぼ正確に求めることができることを明らかにしている。また、ナイフエッジ法による特性 X 線測定の結果から得られる X 線ビームプロファイルとも良く一致することを示している。さらに、照射 X 線光子と生成 1 次及び 2 次電子に関するモンテカルロ輸送計算から、本 X 線マイクロビーム照射装置による単一細胞の最大吸収線量率は 0.3 グレイ毎秒以上であり細胞照射研究に十分利用できること、周辺細胞等による散乱線の影響を十分に小さくできることを明らかにしている。
- (3) X 線マイクロビーム照射実験の際の単一細胞格納保持のために、フォトリソグラフィと感光性樹脂を利用するマイクロチェンバーアレイチップの製作技術を確立している。合わせて、単一細胞の照射研究を能率的に進めることができるように、照射細胞試料の配置をパターン化して培養する手法を考案し、バイスタンダー効果等の検証実験に有効であることを示している。
- (4) 単一細胞の X 線マイクロビーム照射実験により、特定たんぱく質の産生や DNA 損傷に関する多くのデータを取得することに成功し、開発した X 線マイクロビームシステムが細胞照射研究に非常に有用であることを明らかにしている。

以上のように、本論文は単一細胞を正確に X 線マイクロビームで照射する新しい方法を確立したものであり、高精度 X 線マイクロビーム照射法と、従来の方法ではなかなか得られなかった単一細胞の照射損傷機構についての多くの知見が得られている。これらの知見は当該分野の発展に寄与するところが大きく、よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。