

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	曹 麗麗
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>A novel ATM/TP53/p21-mediated checkpoint only activated by chronic <math>\gamma</math>-irradiation          (持続性 <math>\gamma</math> 線被曝で特異的に活性化される ATM/TP53/P21 を介したチェックポイント機構)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教授 松浦 伸也</p> <p>審査委員 教授 永田 靖</p> <p>審査委員 教授 今泉 和則</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>ヒトの身体を構成する細胞は、ヒトの生涯の中で、個々の細胞がそれぞれの役割を担い、それぞれの運命を辿る。放射線は、細胞内外の生体分子への電離作用を介して、それらの細胞が辿る運命を確率的・確定的に変化させ、人体に急性或いは晩発性の生物学的影響を発現させる。放射線を被曝した細胞では、生じた DNA 損傷の質的量的程度に依存して、細胞周期の進行停止、細胞老化、アポトーシスなどの細胞応答が誘導されることが知られている。これまで、そうした細胞応答を制御する分子機構に関しては非常に多くの研究が行われ、その詳細が明らかにされてきた。しかし、多様なヒト構成細胞の種類や放射線の被曝条件に依存した細胞応答と細胞運命を決定する分子機構に関しては未だ不明な点が多い。そこで、本論文では、放射線被曝細胞の細胞応答、細胞運命の決定分子機構を明らかにすることを目的として、放射線照射条件に依存した異なる種類のヒト由来細胞の細胞応答と細胞運命の決定の過程とその分子機構について解析を行った。</p> <p>まず、放射線誘発細胞死の細胞種依存性を明らかにするため、正常線維芽細胞やがん細胞株を含む様々な種類のヒト由来培養細胞株に <math>\gamma</math> 線を 1 Gy/min の線量率で急照射し、コロニー形成能を指標とした細胞生存率によって細胞種間での放射線感受性を比較した。その結果、実験に用いた全ての細胞株で D0 値 (37%生存線量) が 1.1~1.4 Gy の間となり、細胞種間で急照射に対する感受性に大きな差は存在しないことが明らかとなった。次に、同じ細胞株を持続的な</p>			

γ線照射環境下で培養することで、緩照射に対する細胞種依存的な放射線感受性差を比較検討した。その結果、緩照射条件では、急照射の場合と比較して、細胞種間での感受性に顕著な差が現れることが明らかとなった。そこで、持続照射環境が細胞周期進行に与える影響について詳細な解析を行った。その結果、0.347 mGy/min の照射環境では、実験に用いた全てのがん細胞株は10日経過しても、その増殖にほとんど放射線の影響が現れないのに対し、正常二倍体線維芽細胞では、照射開始から24時間でG1期停止による顕著な増殖抑制が現れることが明らかとなった。次に、線維芽細胞における照射線量率に依存したDNA損傷の修復効率の変化を明らかにする為、DNA損傷認識タンパク質53BP1の核内フォーカス数の経時的变化を解析した。その結果、0.347 mGy/min の照射環境では、フォーカス数が照射24時間目からほとんど変化しなかったのに対し、0.694 mGy/min の照射環境では時間経過に伴って増加することが明らかとなった。この結果は、線維芽細胞において、0.347と0.694 mGy/min の照射線量率の間に、DNA損傷誘導量と修復効率の均衡が破綻する線量率閾値が存在する可能性を示唆している。興味深いことに、この線量率の閾値と相関して、照射に対する増殖抑制が0.347 mGy/min 照射では10日間経過しても一時的なものであるのに対し、0.694 mGy/min 照射の場合では照射期間依存的に、βガラクトシダーゼ活性を持つ不可逆的に増殖停止した老化様細胞が増加することが明らかとなった。更に、同様の結果がγ線照射したマウス個体から分離した線維芽細胞についても確認されたことから、細胞は被曝線量率に依存して、細胞周期の進行と停止の決定、及び、細胞老化の発現の決定を制御していることが明らかとなった。

放射線被曝を含む様々なストレスに対する細胞応答においては、がん抑制遺伝子TP53が中心的な役割を果たしていることが知られている。また、DNA損傷ストレスによる細胞周期進行制御応答にはTP53の活性化リン酸化酵素ATM、TP53の転写標的であるCDK-サイクリン抑制因子P21が重要であることが報告されている。そこで、siRNAや阻害剤を用いて、それらの因子の発現及び機能の抑制が持続照射環境下の細胞の細胞応答及び細胞運命決定に与える影響を解析した。その結果、TP53やP21の発現抑制細胞とATM阻害剤処理細胞では持続照射環境下での増殖抑制が顕著に阻害されることが明らかとなった。また、老化様細胞の出現頻度も顕著に低下した。これらの結果から、持続的な放射線照射環境下での細胞応答と細胞運命決定機構はATM/TP53/P21経路に依存する部分が多いことが明らかとなった。また、TP53欠損マウスにおいても、同様の結果が確認された。更に、ATM/TP53/P21経路が抑制された細胞では、持続照射環境下で著しいゲノム不安定性が誘導されたことから、こうした細胞応答性が低線量率の放射線照射においてゲノム安定性の維持に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

以上の結果から、本論文は持続的なストレスに対する細胞応答及び細胞運命決定制御機構の解明に重要であると言うだけでなく、低線量・低線量率放射線被曝の人体影響の解明にとっても極めて重要なものである。よって審査委員会委員全員は、本論文が申請者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。