

論文内容要旨

Low-Dose-Rate Irradiation Suppresses the Expression of Cell Cycle-Related Genes, Resulting in Modification of Sensitivity to Anti-Cancer Drugs

(低線量率放射線は細胞周期関連遺伝子群の抑制を介して
細胞周期を標的とする抗がん剤感受性に影響を及ぼす)

Cells, 11(3): 501, 2022.

主指導教員：柿本 直也教授
(医系科学研究科 歯科放射線学)
副指導教員：入船 正浩教授
(医系科学研究科 歯科麻酔学)
副指導教員：末井 良和講師
(広島大学病院 歯科放射線科)

島袋 紀一

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

「目的」

低線量率放射線の生物学的影響は、医用放射線利用と共にチェルノブイリや福島で起きた原子力発電所の事故以降特に注目されるようになったが、未だ不明な点が多い。また、放射線の細胞応答に影響を与えることが知られている低酸素応答シグナルは、低線量率放射線作用にどのような影響を与えるのか明らかとなっていない。本研究では、低線量率放射線が細胞に与える影響を遺伝子発現の観点から検討し、その詳細な分子機構を明らかにすることを目的とした。

「材料と方法」

1. TIG-3 細胞（ヒト肺由来線維芽細胞）および A549 細胞（ヒト肺由来腺がん細胞）を用いて、低線量率放射線（100, 500, 1000 mGy/day）が細胞増殖に与える影響を MTT 法にて検討した。
2. 通常酸素または擬似低酸素環境下 TIG-3 細胞において、低線量率放射線により発現変動する遺伝子群を RNA-seq により解析した。
3. 示唆された低線量率放射線および擬似低酸素による遺伝子発現変化を、TIG-3 細胞および A549 細胞を用いた定量的 RT-PCR 法にて確認した。
4. 示唆された遺伝子発現制御機構を、低酸素環境下での転写制御において重要な働きをしている転写因子、*HIF1A*, *EPAS1*, *DEC1*, *DEC2* 遺伝子ノックダウン実験による定量的 RT-PCR 法にて解析した。
5. 低線量率放射線および擬似低酸素による細胞周期への影響を、FACS 解析および DAPI による核染色にて評価した。
6. 低線量率放射線および擬似低酸素が、抗がん剤である有糸分裂阻害剤（パクリタキセル）やオーロラキナーゼ B 阻害剤（バラセルチブ）の感受性に及ぼす影響を MTT 法にて検討した。

「結果と考察」

低線量率放射線による TIG-3 細胞の増殖抑制が認められたが、A549 細胞では観察されなかった。擬似低酸素環境下では TIG-3, A549 細胞共に増殖が強く抑制され、低線量率放射線による影響は観察されなかった。RNA-seq 解析により、TIG-3 細胞の発現変動遺伝子数の線量率依存的増加が明らかとなったが、擬似低酸素環境下ではその変化が観察されなかった。エンリッチメント解析から、低線量率放射線により発現が半減した遺伝子群には細胞分裂、細胞周期、有糸分裂、*AURORA B*, *FOXM1* 経路に関連する遺伝子が多く含まれていることが明らかとなった。定量的 RT-PCR 法により、TIG-3 や A549 細胞での *AURKB* および *FOXM1* 遺伝子の発現低下を確認した。また、同等の総線量放射線を一回照射された TIG-3 細胞においても *AURKB* および *FOXM1* 遺伝子の発現低下が観察され、低線量率に特異的な効果ではないことが認められた。

低酸素誘導性転写因子のノックダウン実験の結果、疑似低酸素では *HIF1A*, *EPAS1*, *DEC1* が *AURKB* と *FOXMI* の発現低下に関与している可能性が示唆されたが、低線量率放射線によるそれら発現低下への関与は明らかにならなかった。FACS 解析の結果、低線量率放射線により TIG-3 細胞と A549 細胞の G0/G1 期群が増加し、S 期と G2/M 期群が減少していた。一方、核染色により細胞周期を観察した結果、TIG-3 細胞では M 期の細胞数減少が観察されたが、A549 細胞では観察されなかった。疑似低酸素処理により、G0/G1 期群の減少、S 期群の増加が両細胞で認められ、G2/M 期群は TIG-3 細胞では増加したが、A549 細胞では減少しており、低線量率放射線と疑似低酸素が細胞種特異的に細胞周期を制御していることが示唆された。さらに、TIG-3 細胞では低線量率放射線による誘発微小核および死細胞の割合が増加していたのに対し、A549 細胞では観察されなかった。最後に、低線量率放射線または疑似低酸素処理がパクリタキセルおよびバラセルチブに対する感受性に与える影響を検討した結果、低線量率放射線は TIG-3 細胞において両薬剤に対する感受性を低下させたが、A549 細胞では影響が観察されなかった。以上の結果から、低線量率放射線による遺伝子発現変動を介した細胞種特異的な細胞周期制御が、細胞周期を標的とする抗がん剤の感受性に細胞種特異的な影響を及ぼすことが明らかとなった。これらの細胞種特異的な感受性制御を利用した、効果的で安全な放射線化学療法プロトコールの開発に期待が持たれた。

「結論」

低線量率放射線は、細胞周期関連遺伝子である *AURKB* 遺伝子や *FOXMI* 遺伝子の発現制御を介して細胞周期に細胞種特異的な影響を及ぼし、抗がん剤感受性変化をもたらす。