

氏 名 (本 籍) 佐 藤 眞 一 郎 (高知県)

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 博 甲 第 395 号

学 位 授 与 年 月 日 昭和61年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 5 条第 1 項該当

審 査 研 究 科 医学研究科

学 位 論 文 題 目 **Analysis of Biological Effects of Ionizing  
Radiation by Flow Cytometry**  
(フローサイトメトリによる電離放射線の生物効果の解析)

主 査 筑波大学教授 医学博士 秋 貞 雅 祥

副 査 筑波大学教授 工学博士 大 島 宣 雄

副 査 筑波大学教授 医学博士 濱 口 秀 夫

副 査 筑波大学助教授 理学博士 坂 内 四 郎

副 査 筑波大学助教授 医学博士 深 尾 立

## 論 文 の 要 旨

現在、放射線抵抗性腫瘍に対し、高LET放射線が適用されようとしているが、

- 1) 放射線が、固形腫瘍中の細胞の増殖動態に与える効果、
- 2) 高LET放射線がもつ放射線抵抗性細胞に対する高い致死効果の理由については不明の点が多い、本研究は高LET放射線による腫瘍制御の複雑な作用機序につき、上の 2 つの、より簡単なモデルにおいてflow cytometry (FCM) を用いて細胞動態の立場から理解を求めた。

### <材料と方法>

- 1) 研究材料として、放射線抵抗性をもつヒト悪性黒色腫由来のHMF-1細胞を単層培養したもの、固形腫瘍モデルとしてmulticellular spheroidとしたものを用いた。
- 2) 放射線照射には、300KV X線および筑波大学加速器センターにて得られる高LET $\alpha$ 線を用いた。
- 3) 照射後の細胞動態解析は、細胞を経時的にサンプリング、単一浮遊化し、propidium iodideで核DNAを染色後、FCMにてDNA分布を測定することにより行った。FCMシステムとしてはOrtho社製CYTOFLUOROGRAP SYSTEM 50Hと2150 COMPUTERを改造改良したものを使用した。とくに本研究で用いたspheroidのように複雑な系の動態解析のために、モンテカルロ法を適用した新

しい概念に基く解析ソフトウェアを開発した。

#### <実験結果>

x線照射後のspheroid系と単層培養系の細胞動態変化を比較したところ、両者ともG<sub>1</sub>期細胞のS期への流入と、G<sub>2</sub>+M期への細胞蓄積が認められた。しかしspheroidでは単層培養系に比べ、G<sub>1</sub>期からS期への細胞の流入が著しく増大した。

α線照射単層培養細胞では、X線照射に比べ、G<sub>2</sub>+M期への細胞蓄積の割合は低かったが、その持続時間は有意に長かった。またα線照射後にはG<sub>2</sub>+M期に蓄積した細胞のDNA量は、通常の4CDNA量よりも明らかに多く、膨化をともなった巨核化を示す知見が得られた。

#### <考察と結論>

放射線による腫瘍細胞の動態変化をFCMにより求めた。その結果より放射線照射が腫瘍中の休止期細胞の再増殖を誘発するものであること、また高LET放射線が細胞の著明な核異常を惹起し、これが細胞致死効果を増大させる一因であることを結論した。

## 審 査 の 要 旨

本研究は放射線治療学上きわめて興味深いが、現在不明の点の少ない

- 1) 放射線が固形腫瘍中の細胞の増殖動態に与える効果
- 2) 高LET放射線がもつ放射線抵抗性細胞に対する高い致死効果の理由

の2つの問題につきFCMを用いて細胞動態の立場から解を試みたものである。

本研究で始めてmulticellular spheroidとして培養に成功したHBMV-1細胞を用いて行われた。

1)の研究から、放射線が腫瘍中の休止細胞の再増殖を誘発するものであることが、従来までの<sup>3</sup>Hチミジン標識率に基づく推定の域を脱した直接的証拠をもって示された。

また筑波大学加速器センターで得られるα線を用いた2)に関する研究から、高LET放射線が、細胞核に膨化と非定常的DNA量増加を主とする特異な核形態変化を惹起することが示され、高いLET放射線が与える修復されにくい分子損傷から細胞死にいたる複雑な過程の一端を明らかにしたものと考えられる。

ここで得られた成果は、従来まで不明の点の少なくなかった放射線腫瘍生物学のいくつかの分野の解明への手がかりを与えるものとして高く評価できる。また本研究はその着眼点のみならず、研究目的達成のための手法、装置の開発、改良など、随所に論文提出者の独創性と幅広く高度な知識、技術が生かされていることが認められ、論文提出者が今後一人の独立した研究者として十分な成果をあげうるであろうと期待される。

よって、著者は医学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。