

氏名（本籍）	ZABORONOK ALEXANDER（ベラルーシ）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 6716 号
学位授与年月	平成 25 年 10 月 1 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審査研究科	人間総合科学研究科
学位論文題目	Gold nano-particles as radiosensitizers for glioma radiotherapy (グリオーマの放射線治療に向けての放射線感受性金ナノ粒子の開発)

主査	筑波大学教授	博士（医学）	櫻井 英幸
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	熊田 博明
副査	筑波大学講師	博士（医学）	岡本 嘉一
副査	筑波大学講師	博士（医学）	三好 浩稔

論文の内容の要旨

（目的）

本研究では、ヒトU251 悪性神経膠腫細胞における、大きさの異なる 8nm と 50nm の GNP（金ナノ粒子）の取り込み機構、細胞内局在、蓄積、毒性を検討するとともに、細胞および動物実験に使用する GNP とコロイド溶液の安定性を検討することを目的としている。その結果をうけて、ヒト悪性神経膠腫U251 細胞における GNP の放射線治療増強効果の評価を行い、in vitro の結果に基づいた動物実験、臨床研究までを計画することを目的とした。

（対象と方法）

8nm と 50nm の GNP、ヒト悪性神経膠腫U251 細胞株を用いた。GNP を含有するコロイド溶液の光学的特性は、UV-2501 PC®光学分析装置（島津製作所株式会社、日本）を用いて分析した。細胞毒性は MTS 分析(Cell Titer96® Aqueous One Solution, Promega, USA)を用いて評価した。透過型電子顕微鏡の数値は、JEM-1400 TEM を用いて得られた。金の細胞内蓄積は、誘導結合質量分析法(ICP-8100MS)により評価した。U251 の X 線照射後細胞生存曲線をコロニー形成(CF)分析により評価し、SPSS18.0 の線形回帰関数を使用して、線形二次モデルに適合させた。GNP の種類ごとに線量増強因子を分析した。

（結果）

透過型電子顕微鏡により、8nm と 50nm の GNP はグリオーマ細胞の細胞質内に観察され、核内浸透は認

めなかった。8nm GNP 用培地中濃度と U251MG 細胞増殖の減少に負の相関がみられた。本研究の範囲内 (15-150 μ g/ml) で 50nm GNP の毒性はなかった。GNP 両タイプともに、U251MG 細胞によく蓄積した。8nm GNP では 45 μ g/ml の濃度において (用量増大係数 (DEF) 1.246), 50nm GNPS では 30~45 μ g/ml の濃度において (DEF 1.246~1.319), 8Gy 照射後の腫瘍細胞生存率の有意な減少が CF 分析により示された。50nm の GN 濃度が 45 μ g/ml において、最も顕著な減少が観察された。GNP コロイドの安定性、および毒性の検討から動物実験を行う際の最適な濃度を算出可能であった。Hyaluronic acid-melanin-based GNP (HAMG-NP) を用いた実験動物では、放射線増感効果が観察された。

(考察)

光吸収分析により、GNP コロイド溶液の安定性、細胞および動物実験と適合性を確認した。GNP の細胞毒性は、培地中で、その大きさと濃度に依存した。8nm の GNPS は 60 μ g/ml で毒性があることから、本研究では両 GNP ともに 15 μ g/ml, 30 μ g/ml, 45 μ g/ml の濃度を使用している。使用する照射源は、実効範囲内の限られた量子しか発生しないが、US National Institute of Standards and Technology が提供する金やその他金属の X 線質量減衰係数に従って、最も有効な照射エネルギーを決める事ができた。粒子のサイズは、放射線の増強に影響を与えることを示唆した。また、造影剤としても用いることもできる大きな粒子の GNP は低エネルギー X 線とも相互作用することがわかった。8nm GNP 濃度は 45 μ g/ml から、50nm GNP 濃度では 30 μ g/ml から 8Gy 照射後の神経膠腫細胞のコロニー形成を有意に阻害し、両タイプともに、照射による阻害効果があることがわかった。50nm GNP においては 45 μ g/ml まで濃度を上昇させたが、細胞生存率のさらなる減少は示さなかった。

結論として、大きさの異なる GNP は両タイプともに細胞によく取り込まれ、放射線増感効果をしめした。今後のさらなる検討により、最適化が図れば神経膠芽腫に対する治療戦略の一つとなる。

審査の結果の要旨

(批評)

難治性腫瘍の代表である神経膠芽腫に対して、GNP を用いた新しい放射線増感効果を検討した論文である。8nm および 50nm の GNP は両タイプともに U251MG によく取り込まれ、細胞膜内に陥入し、細胞質内の液胞に密集する。小さい (8nm) GNP は細胞内への蓄積に、高濃度 (30~45 μ g/ml) を要し、より高い細胞毒性を示し、大きい (50nm) GNP では 15 μ g/ml で細胞内に蓄積され、本研究内の濃度 (15-150 μ g/ml) では毒性はみられなかった。両サイズの GNP はともに、統計的に有意な治療効果の増強を示した。今後、有用性を示すエビデンスの蓄積が必要ではあるが、この治療戦略が今後の神経膠芽腫に対する有望な新規治療となりうると考えられ、本論文の意義は高い。

平成 25 年 7 月 30 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士 (医学) の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。