

氏名（本籍）	GERELCHULUUN ARIUNGEREL
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博甲第 7460 号
学位授与年月	平成 27 年 3 月 25 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	DNA repair-pathways for DNA damages induced by particle beams (粒子線による DNA 損傷の修復メカニズム)

主査	筑波大学教授	博士（理学）	入江 賢児
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	石川 仁
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	磯辺 智範
副査	筑波大学助教	博士（理学）	齋藤 祥子

## 論文の内容の要旨

### (目的)

高エネルギー粒子線は、その物理的特性から、線エネルギー付与 (LET) が X 線よりも高く病巣に対する線量集中性が極めて良好なことから、固形がんに対する新たな治療として大きな期待が寄せられ、治療例も増加している。しかしながら、誘導される DNA 損傷やそれに続く修復メカニズムにはまだ多くの不明な点が残されており、今後正常組織への傷害を抑えて腫瘍への選択的効果を上げるためにはその解明が必須である。DNA 二本鎖切断を修復する主な経路は非相同末端結合 (NHEJ) と相同組み換え (HR) であるが、最近、LET 値によって DNA 修復機構は異なる可能性が示唆されている。そこで本研究は、治療用の高エネルギー陽子線と炭素線照射後に起きる DNA 二本鎖切断の修復には NHEJ と HR 修復経路がどの程度関わっているのかを明らかにすることを目的として行われた。

### (対象と方法)

チャイニーズハムスター卵巣由来細胞で野生型の AA8、線維芽由来細胞で野生型の V79、そしてそれらの細胞由来の DNA-PKcs 欠損細胞 V3、XRCC4 欠損細胞 XR-1、XRCC3 欠損細胞 irsSF と XRCC2 欠損細胞 irs1 を対象として、セシウムガンマ線、200MeV 陽子線、290MeV 炭素線の照射が行われた。V3 と XR1 は NHEJ 修復経路が欠損しており、irs1SF と irs1 は HR 修復経路が欠損している。照射後の増殖能変化をコロニー形成法で、DNA 二本鎖切断の経時的変化を  $\gamma$ H2A.X の蛍光免疫化学染色法で、そして染色体の異常をギムザ染色法で比較検討された。

### (結果)

照射後の細胞生存率は NHEJ 又は HR 修復経路に依存しており、DNA-PKcs が欠損した V3 細胞は 3 種類の放射線に対して最も高い感受性を示した。陽子線照射では  $\gamma$  線照射に対しすべての細胞で同程度の感受性を示したが、炭素線照射では正常細胞と HR 欠損細胞のみが高い感受性を示し、NHEJ 欠損細胞については炭素線照射による感受性の増加は認められなかった。NHEJ 欠損細胞の中でも特に XR-1 は他の細胞に比べて炭素線照射による感受性増加への寄与は小さかった。そして、正常細胞と HR 欠損細胞に対する炭素線照射の生物学的効果比 (RBE) は、陽子線の RBE と比べて有意に高かった。一方で、NHEJ 欠損細胞に対する炭素線の RBE と陽子線の RBE には差が認められなかった。照射後の  $\gamma$ H2A.X フォーカスの修復は NHEJ 欠損細胞で遅延した。特に DNA-PKcs 欠損細胞の V3 が最も遅延し、24 時間後でもフォーカスが他細胞より多く残っていた。照射後の染色体の異常は正常細胞に比べ NHEJ と HR 欠損細胞で有意に高かった。染色体異常の中では染色体切断やリング型、染色分体異常の中では染色分体切断や三放射状の異常がもっとも多く観察された。いずれの種類の変異も正常細胞に比べて NHEJ と HR 欠損細胞で有意に高かった。陽子線照射と  $\gamma$  線照射ではいずれの細胞に対しても同程度の染色体の異常を引き起こした。一方、炭素線照射では有意ではないが多くの染色体の異常を引き起こした。

#### (考察)

治療用の陽子線照射と炭素線照射により生じる DNA 損傷は主に NHEJ 経路により修復されることが示唆された。さらに、 $\gamma$  線照射、陽子線照射と比較して炭素線照射による DNA 損傷の修復には HR がより寄与していることが示唆された。

## 審査の結果の要旨

#### (批評)

本研究では、治療用の陽子線照射と炭素線照射により生じる DNA 損傷は主に NHEJ 経路により修復されることが示唆された。さらに、 $\gamma$  線照射、陽子線照射と比較して炭素線照射による DNA 損傷の修復には HR がより寄与していることが示唆された。これらの研究成果は、治療用の高エネルギー陽子線と炭素線照射後に起きる DNA 二本鎖切断の修復機構を解明する上で重要な知見であり、高く評価される。

平成 26 年 12 月 22 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。