

審査の結果の要旨

氏名 尹 洪蘭

本研究は、癌治療に用いられる放射線と温熱の併用効果の分子メカニズムに関するものである。放射線照射で生じる種々の DNA 損傷の修復が、温熱処理によって阻害されるという報告が以前から多数なされているが、分子レベルでのメカニズムは明らかになっていない。DNA 二重鎖切断は放射線によって生じる DNA 損傷の中で最も深く細胞の生死に関わると考えられている。近年、真核細胞において DNA 二重鎖切断は、主として2つの機構、即ち非相同末端再結合 (NHEJ) 経路、相同組換え (HR) 経路によって修復されること、また、それぞれの機構の中心となる分子群が次第に明らかになっている。本研究は、NHEJ、HR あるいはその両方を欠損する哺乳類およびトリ培養細胞を用いて、温熱による放射線増感のメカニズム、特にこれら2つの主要な DNA 二重鎖切断修復機構との関係を明らかにすることを試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. チャイニーズハムスターCHO-K1 と V79 を 44℃で 20, 40, 60 分処理した後、DNA-pull-down 法により DNA-PK 活性を測定し、また、コロニー形成法により放射線感受性を調べた。DNA-PK 活性は 20 分ではほとんど変化せず、40、60 分処理で徐々に低下したのに対し、放射線増感は 20 分処理の場合にも認められた。また、これらの細胞に由来し、Ku タンパク質の 86kDa サブユニット (Ku86) を欠損する変異株 *xrs5* および XR-V15B においても、温熱による放射線増感は認められた。その程度についても、*xrs5* では親株 CHO-K1 に比べて若干小さい傾向が見られたものの、XR-V15B においては特にそのような傾向は認められなかった。これらの結果から、温熱による放射線増感は少なくとも Ku の温熱感受性だけでは説明できないと結論された。

2. 更に、DNA ligase IV と複合体を形成し、NHEJ 経路の最終段階、即ち DNA 鎖の結合反応に関わると考えられる XRCC4 を欠損するマウス M10 細胞でも、そこに XRCC4 cDNA を導入した細胞と同等の温熱による放射線増感が見られた。これらの結果から、少なくとも NHEJ に対する影響だけでは温熱による放射線増感を説明することはできないと結論された。
3. ニワトリ DT40 細胞およびそれに由来する NHEJ、HR、あるいは両方の欠損細胞、計 5 種類の細胞を用いて検討を行った。温熱単独処置に対する感受性の基礎的検討から、DT40 細胞は哺乳類細胞に比べて著しく温熱抵抗性であることが分かったため、46℃、20、40 分処置後の DNA-PK 活性と放射線感受性を調べた。哺乳類細胞の場合と同様に、温熱処理後の DNA-PK 活性の低下が認められたが、その程度は小さく、また、放射線感受性の変化とも一致しなかった。
4. 温熱による放射線増感、全ての細胞で認められた。また、NHEJ と HR 両方を欠損する細胞においても増感の程度は 20 分処理後で正常細胞と同等、40 分処理後ではむしろ大きかった。このことから、NHEJ に加えて、HR、更には NHEJ と HR 両方に対する作用を考えても、それだけでは温熱による放射線増感を説明することはできないと結論された。

以上、本研究は、温熱による放射線増感の機構として、少なくともこれまでに考えられていた NHEJ あるいは HR 阻害だけでは説明不可能で、それ以外の要因があることを明確に示した点に大きな意義がある。本研究は、これまで未知の部分が多かった温熱による放射線増感効果の分子メカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものであると考えられる。