



Title	放射線によるミトコンドリア形態変化と放射線感受性との関連性に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	房, 知輝
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第14115号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/78544
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Tomoki_BO_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：房 知輝

Name

学位論文題名

The title of the doctoral dissertation

放射線によるミトコンドリア形態変化と放射線感受性との関連性に関する研究

< abstract >

ミトコンドリア形態とミトコンドリア機能は深い関連があることが知られている。近年、放射線照射後のミトコンドリア機能変化が細胞の生死に重要であることが明らかになってきているとともに、放射線により生じるミトコンドリア分裂の亢進を抑制することで細胞死が低減することが報告されている。このことから、放射線によるミトコンドリア形態変化が細胞の放射線感受性に寄与することが示唆されており、その間にはミトコンドリア形態変化を通じた何らかの機能制御がなされていると推察される。しかしながら、放射線によってミトコンドリア形態が変化することで細胞死を誘導しているミトコンドリア機能は未だ見出されておらず、また、ミトコンドリア形態変化についての検討も複数あるミトコンドリア形態制御タンパク質の中でミトコンドリア分裂タンパク質 Drp1 の評価のみに留まっている。そこで、本研究ではミトコンドリア形態変化と放射線感受性との関連性についてを明らかにすることを目的とした。

第一章では、ミトコンドリア融合および分裂を制御するタンパク質をそれぞれ安定的にノックダウンした細胞を樹立し、そのミトコンドリア形態と放射線感受性を評価した。Drp1 および Fis1 KD 細胞ではミトコンドリアが伸長していたのに対し、Mfn2 および Opa1 KD 細胞ではミトコンドリアが短縮しており、これらのミトコンドリア形態制御タンパク質ノックダウンによりミトコンドリア分裂または融合が抑制されていることが明らかとなった。これらの細胞の放射線感受性を評価したところ、Drp1 および Fis1 KD 細胞では放射線感受性が低減していたのに対し、Mfn2 および Opa1 KD 細胞では放射線感受性に影響が見られなかった。以上の結果から、ミトコンドリア分裂を介した形態変化が放射線感受性の修飾に重要であることを明らかとなった。

そこで、第二章では放射線によるミトコンドリア分裂の活性化機構について Drp1 のリン酸化による機能制御に着目して検討を行った。まず、放射線照射後の Drp1

の S616 および S637 リン酸化レベルを評価したところ、Drp1 S616 リン酸化は亢進した一方で、S637 のリン酸化は変化しないことが明らかとなった。続いて、X 線照射によるミトコンドリア分裂に対して Drp1 リン酸化がどう影響するのかを明らかにするため、Drp1 欠損細胞に野生型 Drp1 あるいは Drp1 セリン変異体 (Drp1 S616A、Drp1 S637A) を導入した。野生型 Drp1 発現細胞と比較して Drp1 S637A 発現細胞では X 線照射によるミトコンドリア分裂に有意な差がなかった一方で、Drp1 S616A 発現細胞はこの分裂を抑制した。このことから、Drp1 S616 リン酸化が放射線にミトコンドリア分裂の亢進に重要であることが明らかとなった。そこで、Drp1 S616 リン酸化を引き起こすキナーゼについて検討を行ったところ、CaMKII の障害が X 線照射後の Drp1 S616 リン酸化ならびにミトコンドリア分裂の亢進を抑制した。以上の結果から、X 線照射後、CaMKII が Drp1 S616 のリン酸化を亢進することで、ミトコンドリア分裂の亢進を引き起こすことが示唆された。

第三章では、放射線によるミトコンドリア分裂の亢進がどのようにして放射線感受性を修飾しているのかのメカニズムを明らかにするため、ミトコンドリア分裂抑制により放射線感受性が低下していた Drp1 および Fis1 KD EMT6 細胞を用いた検討を行った。放射線感受性変化に寄与している放射線照射後の細胞死様式を評価したところ、EMT6 細胞において放射線照射後の細胞死にはアポトーシスやネクローシスよりも分裂期崩壊が重要であり、ミトコンドリア分裂の抑制は放射線による分裂期崩壊の一部を減少した。この分裂期崩壊を低減させた機構を明らかにするため、DNA 二本鎖切断、ATP、ROS ならびに Ca^{2+} 制御の寄与について検討したところ、DNA 二本鎖切断、ATP ならびに ROS はこれに寄与していなかった。その一方で、 Ca^{2+} が放射線照射後の分裂期崩壊の誘導に寄与していることに加え、ミトコンドリア分裂の抑制が放射線による細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の増加を阻害することが明らかとなった。これらの結果をまとめると、放射線照射後にミトコンドリア分裂が亢進することで細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ が増加し、これが分裂期崩壊の誘導に一部寄与することが示唆された。増加する細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ の由来や、 Ca^{2+} が分裂期崩壊の誘導に寄与する機構については今後の検討の余地がある。

以上の結果をまとめると、放射線照射によって CaMKII を介した Drp1 S616 リン酸化がミトコンドリア分裂を引き起こすとともに、このミトコンドリア分裂亢進が Ca^{2+} 制御を通じて分裂期崩壊の誘導に関わることで細胞の放射線感受性を修飾しているという一連のメカニズムが明らかとなった。今回、 Ca^{2+} 制御が放射線照射によるミトコンドリア形態変化と放射線感受性修飾に非常に重要であることが示唆されたものの、 Ca^{2+} 制御とミトコンドリア形態変化の上下関係については未だ不明な点が多く、今後さらなる検討が必要である。現状では、 Ca^{2+} がミトコンドリア分裂を活性化するのか、ミトコンドリア分裂が細胞内 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 増加させるかのどちらが先かを明らかにすることはできないものの、これらの知見から少なくとも、ミトコンドリア分裂と Ca^{2+} 制御が互いに密接に関与していることが示唆される。

本知見は Ca^{2+} 制御というミトコンドリアを介した放射線誘発細胞死の新たなメカ

ニズムの一端を明らかにした知見であり放射線生物学の基礎研究として意義ある
ものであると考えられる。

