



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	<a href="http://hdl.handle.net/2115/78544">http://hdl.handle.net/2115/78544</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
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_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

## 学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：房 知輝

### 審査委員

主査	教授	稲波	修
副査	教授	乙黒	兼一
副査	准教授	岡松	優子
副査	准教授	安井	博宣

### 学位論文題名

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

放射線照射されたがん細胞においてミトコンドリアの断片化が亢進することが知られており、近年、このミトコンドリア形態変化と細胞死との関連性が先行研究において報告されている。したがって、その機能解明はがん治療の標的としても興味を持たれ、近年、多くの研究が進められている。しかし、放射線によるミトコンドリア分裂の亢進になにが係わっているか、ミトコンドリアの放射線応答で細胞死に関連する因子として何が重要かについては、現時点で明確にした報告はない。本学位申請者の房知輝氏は放射線によるミトコンドリア形態変化の細胞内機構に関与する因子を明らかにし、その制御系と細胞死との関係を明らかにする事を目的として研究を進めた。

まず、房知輝氏は生理的条件下でミトコンドリア断片化に関与することが知られている Drp1 と Fis1 と融合に関与する Mfn2 と Opa1 の4つの制御タンパク質がミトコンドリアの放射線応答にも関わりがあるのか明らかにすることを試みた。そのために、マウス乳がん由来 EMT6 細胞で4つの形態制御タンパク質それぞれのノックダウン (KD) させた細胞株を用いて研究を行った。まず、それぞれの細胞を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、Drp1 と Fis1KD 細胞ではミトコンドリアが伸長した形態を持つ細胞が優位を占め、Mfn2 と Opa1KD 細胞では断片化した形態が優位を占めていた。また、Drp1 と Fis1KD 細胞ではそれぞれの野生型と比較して放射線照射による生残率の低下の抑制が観察された。一方、Mfn2 と Opa1KD 細胞ではそれぞれの野生型と比較して放射線照射による生残率曲線には影響が見られなかった。この事は Drp1 と Fis1 が生残率に強く関与することを示している。次に房知輝氏は既に生理的に Drp1 が Fis1 の上流で制御することが報告されていることから、Drp1 を中心に Drp1 の放射線応答とその調節機構について着目して検討を進めた。Drp1 は主に S616 と S637 の2カ所のリン酸部位があり、既に、この部位のリン酸化反応

によって Drp1 の活性化が大きく調節されていることが知られている。そこで、それぞれのリン酸化体に対する特異抗体を用いたウェスタンブロッティング法により、放射線照射後のリン酸化の程度を評価した。その結果、放射線照射後に S616 でのリン酸化がミトコンドリア断片化応答とほぼ同じ照射後 12 時間～24 時間程度で上昇し、S637 でのリン酸化には変化が見られなかった。そこで、それぞれのリン酸化部位のアラニン変異体を導入したプラスミドを一過性に過剰発現させたところ、S637A では放射線によるミトコンドリア断片化応答が温存されたのに対して、S616A ではこの断片化が起きず、融合した伸長したままのミトコンドリアを多く持つ細胞が観察された。以上の事から Drp1 の S616 のリン酸化が放射線によるミトコンドリア断片化応答に重要であることが判明したので、房知輝氏は各種のリン酸化酵素阻害剤を用いて関与するリン酸化酵素の探索を試みた。その結果、放射線による Drp1 の S616 のリン酸化の責任リン酸化酵素としてプロテインキナーゼ C (PKC) ではなく、カルモデュリンキナーゼ II (CAMKII) の関与が示唆された。最後に房知輝氏はミトコンドリア断片化がどういった細胞死の種類に関与するのか、そしてどのような因子が細胞死を高めているのか、その機構について Drp1 と Fis1 の KD 細胞を用いて検討した。その結果、Drp1 の KD 細胞では野生型と比較して、照射によって引き起こされるネクロシスやアポトーシスではなく、分裂期崩壊の誘導を有意に抑制する事が観察された。また、Drp1 が関与する分裂期崩壊には DNA 鎖切断、ATP 産生、ROS の寄与は少なく、細胞内カルシウム調節が一部関与することが明らかとなった。

以上の房知輝氏の見いだしたミトコンドリア形態調節因子による細胞内カルシウム制御とそれらが関与する細胞死誘発の機構は新知見であり、放射線誘発細胞死の一端を明らかにしたという放射線生物学的な基礎研究として重要であるだけでなく、ミトコンドリアを標的としたがん治療の開発の基礎情報としても意義深いと考えられる。よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者房知輝氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。