HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	X線照射後の細胞遊走と細胞周期依存性［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	清野, 良輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(保健科学)
Dissertation Number	甲第15825号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/91932
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryosuke_Seino_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

様式　９

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（保健科学）　　氏名：清野　良輔

審査委員	主査　教授	神島　保
	副査　准教授	福永　久典
	副査　教授	石川　正純（医理工学院）

学位論文題名

X 線照射後の細胞遊走と細胞周期依存性

当審査は令和 6 年 1 月 24 日実施の公開発表にて行われた。（出席者 70 名）

がんの転移はがん患者の死亡原因の約 90%を占めており，浸潤・転移の制御は喫緊の課題となっている。この浸潤・転移においては細胞の移動（細胞遊走）が重要な役割を有している。近年のがん治療においては抗がん剤と放射線治療を組み合わせた集学的治療が選択される場合がある。抗がん剤には細胞周期の特定の段階に作用し殺細胞作用を発現するものが存在し，細胞周期進行の阻害と放射線治療効果の増大との関連が報告されている。しかし，放射線照射による細胞遊走への影響や，照射時の細胞周期による影響の差異については依然不明のままである。

本論文は，このような現況にある細胞遊走への放射線影響とその細胞周期依存性について調査し，放射線治療によるがんの浸潤・転移の制御に関する知見の蓄積に資することを目的とするものである。本論文の前半においては，細胞周期同調法による培養細胞の同調の程度とその変遷に関する調査について報告した。後半においては，前半で検証した細胞周期同調法により得た同調細胞に対し X 線照射した場合に細胞遊走に及ぼす影響について報告した。

論文の前半において，「分裂期採集法」と呼ばれる方法を用いて細胞周期を同調させ，同調サンプルの細胞周期分布の変化を追跡した。具体的には，細胞周期の時間的，空間的なパターンを可視化できる Fluorescent Ubiquitination-based Cell Cycle Indicator (FUCCI)を導入したヒト子宮頸がん細胞（HeLa-FUCCI 細胞）を用いて，分裂期採集法後の細胞周期同調性の経時的変化をイメージングした。さらに，フローサイトメトリーにより分裂期採集法後の細胞内 DNA 含量を測定することで，各細胞周期の存在比を詳細に分析した。その結果，細胞周期位相が G1 期，G2 期にある細胞割合が最も多くなる分裂期採集法後の時間が 8 時間，14 時間であると特定できた。また，分裂期採集法により同調させた細胞に対し X 線を照射し細胞生存率を定量することで HeLa-FUCCI 細胞の細胞周期依存的な放射線感受性を調査した。これにより，G1 期後期から S 期初期における放射線高感受性という従来的知見を再現でき，分裂期採集法による細胞周期同調の有効性が確認された。

論文の後半においては， G1 期同調細胞および G2 期同調細胞に対し X 線を照射し，照射時の細胞周期による細胞遊走への影響を評価した。具体的には，前半で検証した分裂期採集法を用いて細胞を G1 期もしくは G2 期に同調させ X 線を照射した後，CO2 インキュベーター内でサンプルをタイムラプス撮影した。タイムラプス画像上で細胞の位置と形状を同定し細胞を追跡するため，

深層学習アルゴリズム CellPose を用いて細胞をセグメンテーションした。次にセグメンテーションした細胞を ImageJ プラグイン Trackmate により追跡することで，タイムラプス画像から細胞の移動方向および移動速度を定量した。そのランダム性を評価する平均二乗変位の解析により，X 線照射の有無および照射時の細胞周期位相に関わらず細胞遊走はランダムウォークであることが示された。また，細胞移動速度の解析により，X 線照射後の細胞遊走は G1 期細胞では抑制され，G2 期細胞では亢進されることが示唆された。さらに，細胞移動速度の解析結果から得たパラメータを用いたシミュレーションにより，がん細胞が原発巣から最も離れる距離は，G1 期同調群では減少し，G2 期同調群では増加する傾向が示された。

これらの結果を総合すると，S 期において DNA 合成を阻害する抗がん剤と放射線治療を併用することにより，放射線治療効果の最大化および浸潤・転移の抑制を期待できることが示唆された。

これを要するに，著者は，X 線照射による細胞遊走への細胞周期依存的影響に関する新知見を得たものであり，化学放射線治療におけるがんの浸潤・転移の制御に関する知見に貢献するところ大なるものがある。よって著者は，北海道大学博士（保健科学）の学位を授与される資格あるものと認める。