

氏名(本籍) 齋藤佳孝

学位の種類 医学博士

学位記番号 医博第1038号

学位授与年月日 平成2年3月28日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専攻 東北大学大学院医学研究科  
(博士課程)生理学系専攻

学位論文題目 放射線照射によるclonogenic tumor cellの動態  
の変化に関する研究

(主査)

論文審査委員 教授 小野哲也 教授 鈴木磨郎

教授 松沢大樹

# 論文内容要旨

## 目 的

一般的に腫瘍を構成する腫瘍細胞は細胞増殖能の観点から死細胞、増殖能を失った腫瘍細胞及び無限増殖能を有するclonogenic tumor cellの3種に大別され、このうち放射線による悪性腫瘍の治療ではclonogenic tumor cellを制御することが必要である。このため、放射線治療中及び治療後のclonogenic tumor cellの動態を調べることは適切な時間的線量配分や化学療法剤との併用を考える際に重要であると考えられる。しかし、この細胞についての研究は未だほとんどなされていないのが現状である。そこで本研究では*in vivo*、*in vitro*の両方で増殖の高いマウスの扁平上皮癌を用い、clonogenic tumor cellの中に占めるS期細胞の割合を照射後経時的に調べることにより、放射線照射後のclonogenic tumor cellの動態について検討を行った。

## 材 料 と 方 法

動物は8～12週齢のWHT/Htマウス雄を使用し、腫瘍は同系マウスに自然発生し皮下継代移植によって維持されている扁平上皮癌を用いた。実験には下腿皮下に移植した後約8 mmの直径に達した腫瘍を用いた。S期のclonogenic tumor cellの割合を調べるためには*in vitro*でハイドロキシウレア (HU) 処理を行った。これはHUがS期細胞を選択的に殺し同時にG<sub>1</sub>期からS期への細胞周期の進行を阻止する作用を利用したものである。コロニー形成能は二重軟寒天コロニー法により推定した。未処理腫瘍細胞におけるコロニー形成率は約43%であった。

## 結 果 及 び 考 察

①S期細胞を同定するためのHU処理条件は実験により、処理時間を2時間、処理濃度を25mMとした。またこの時のHU処理による細胞生存率は高濃度<sup>3</sup>H-TdRの生存率と同程度であることから、HU処理はこの腫瘍系でS期細胞を選択的に過不足なく殺していると考えられる。②上記の方法を用いて腫瘍の増殖に併うS期のclonogenic tumor cellの割合の変化を調べたところ、腫瘍が大きくなり増殖速度が鈍化した時も著明な変化は認められなかった。従って、今回調べた期間内ではclonogenic tumor cellの増殖能力の程度は腫瘍の成長を通じて一定であることがわかった。③次に放射線照射後のS期細胞の割合の変化を調べたところ、air-breathingでの照射の場合3.5Gyの照射では著明な変化は認められないが、10及び15Gyの照射では照射後一旦低下し、その後急激に増加するという変動がみられた。しかも、照射後S期細胞の割合が低下する期間は線量に依存し高線量ほど延長していた。この腫瘍の細胞生存率曲線から10及び15Gyの照射時に生き

残る細胞のほとんどがhypoxic cellであると判るので、照射後観察されたS期細胞の変化はhypoxic cellの動態と考えられる。④一方、腫瘍を照射時に限って一時的にhypoxicの状態にし、照射後oxicの状態に戻したところS期細胞の割合はair-breathingでの照射の場合と異なり、照射後1日目から増加して3日目には最高値に達し、その後減少した。これはacute hypoxiaの状態では照射すると照射前にoxicであった細胞の多くが生き残り、照射後acute hypoxiaの状態から開放されることによって再酸素化され早期にgrowth phaseに戻るためと思われる。⑤X線を10Gy照射した後1週間にわたり腫瘍の放射線感受性を調べたところ、有意な変化は認められなかった。これより、10Gy照射後にS期細胞の割合が変化しても放射線感受性には有意な影響を及ぼさない事がわかった。本研究で明らかにされたS期のclonogenic tumor cellの動態は放射線治療において適切な時間的線量配分を考える際に必要な4R (reoxygenation, redistribution, recovery, regeneration) のうちのregenerationに関与していると考えられる。またこのregenerationには正常組織の損傷なども関与しており、さらに他の3Rとも密接に関係していると思われるので、S期のclonogenic tumor cellの動態の解明は適切な時間的線量配分の決定には重要であるが、これのみでは最終的な時間的線量配分を決定することはできない。本研究は時間的線量配分を決めるのに必要な多くの因子のうちの一つを明らかにしたものと言えよう。

## 審査結果の要旨

悪性腫瘍を放射線によって治療するためには、腫瘍を構成するさまざまな細胞のうちでも無限増殖能をもったclonogenic tumor cellを制御することが最重要課題となる。しかし、この細胞の動態が放射線照射後どのように変化するかについてはまだよく調べられていない。本論文は臨床的にも出現頻度の高い上皮性癌のモデルとしてin vitro, in vivoの両方で移植可能なマウスの扁平上皮癌を用い、その中のclonogenic cellの放射線照射による動態の変化をS期の変化として把握したものである。

clonogenicityはin vitroのcolony formationにより、またS期にある細胞はヒドロキシウレアによるS期細胞のselective killingにより決定した。その結果以下の事が明らかにされた。

- (1)腫瘍の増殖に伴いclonogenic tumor cellの数も平行して増加する。
- (2)この間、S期細胞の割合は変化しない。
- (3)放射線照射後は1～6日の間にはS期細胞の割合に線量に依存した変動がみられる。
- (4)その変動は腫瘍中のhypoxic cellの変動を反映しており、しかもそれはoxic cellの変動よりは遅れて現れる。
- (5)S期細胞の割合が変化しても放射線感受性には変化がみられない。

腫瘍の放射線治療をより効果的に行なうためには腫瘍細胞がin situに於て放射線照射に対しどのような反応を示すかを知ることは不可欠であるが、この種の研究には多くの労力を要する地道な実験が必要であり余り研究が進んでいないのが現状である。このような状況の中でclonogenic cellの放射線照射後の動態の変化を定量的に明らかにした本論文は、放射線治療の進展のための基礎となる貴重な情報を提供したものであり学位授与に十分値するものである。