



氏 名 守 口 齊 (昭和48年10月1日生)
 本 籍 地 秋 田 県
 学 位 の 種 類 博士 (歯学)
 学 位 授 与 番 号 岩医大院歯博第180号
 学 位 授 与 の 日 付 平成15年3月25日
 学 位 授 与 の 条 件 学位規則第4条第1項該当者 (博士課程修了者)
 学 位 論 文 題 目 HeLa S3細胞に対するFDGと⁶⁷Ga citrate集積の細胞周期依存性

論文内容の要旨

I. 研究目的

悪性病変部では、グルコース類似薬である¹⁸F-2-deoxy-2-fluoro-D-glucose (FDG) が集積することが知られており、この生化学的特性が positron emission tomography (PET) による癌の診断で利用されている。しかし、FDG-PET を行うと症例によってFDG集積が大きく異なることがあり、本トレーサーの細胞分裂指数に対する依存性が考えられている。本研究では、培養癌細胞を同調培養し、FDG集積の細胞周期依存性について調べたほか、従来から single photon emission tomography (SPECT) にて使用されてきた腫瘍トレーサーである⁶⁷Ga citrate (Ga) との比較検討を行った。

II. 研究方法

培養癌細胞 HeLa S3 を用い、高濃度 thymidine (TdR) によるダブルブロッキング法にて細胞周期同調を行った。その後培地 1 ml あたり FDG を 370 kBq, Ga は 74 kBq をそれぞれ投与し、37°C・5%CO₂ 存在下にて30分間培養した。培養終了後は、trypsin 処理にて細胞を浮遊させ phosphate buffered saline (PBS) 洗浄を行った後、ガンマカウンターにて各サンプルごとの放射能の測定と細胞数を計測した。細胞同調の確認および相対的 DNA 量、DNA 合成能の測定のためフローサイトメトリー (FCM) を用いた。DNA 染色には propidium iodide (PI) と anti bromodeoxyuridine (BrdU)-FITC を用い、DNA/BrdU 二重標識を行った。その後 FCM を用いて DNA に取り込まれた DNA と BrdU 量とを同時に測定した。さらに細胞膜表面の glucose transporter 1 (Glut 1) と細胞周期との関係を調べた。

III. 研究成績

1. HeLa S3 に対する FDG 集積は、同調処理終了直後の 0 時間 (S 期前期) と 7 時間後 (G₂/M 期) でピークに達し、10 時間 (G₁ 期) 以降では同調処理終了直後の約 40% まで減少した。
2. DNA 合成の指標である BrdU 集積のピークは 2 時間後であり、その後急峻に低下し 8 時間以降の集積は数% となった。
3. Glut 1 の発現量は FDG 集積と同様に S 期で最大となり、G₁ 期では低下した。
4. Ga 集積は同調処理終了の 2 時間後から上昇し、8 時間後 (G₂/M 期) にピークに達したが、10 時間後にはピーク時の約 40% まで低下した。

IV. 考察及び結論

1. FDG は、S 期前期と G₂/M 期で最大に取り込まれ、G₁ 期で低下した。
 2. 膜表面の Glut 1 は、FDG が最大に取り込まれる S 期前半で発現量が増加することから、FDG は、いくつかのサブファミリーのうち少なくとも Glut 1 を介して細胞内に入ることが推測された。
 3. Ga は、G₂/M 期で最大に取り込まれ、G₁ 期と S 期では低下した。
- 以上より、FDG-PET と Ga-SPECT で得られる画像には、癌細胞に対する FDG あるいは Ga 集積の細胞周期依

存性が反映されていると推測された。

論文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 坂 卷 公 男 (歯科放射線学講座)

副査 教授 水 城 春 美 (口腔外科学第一講座)

副査 教授 木 村 重 信 (口腔微生物学講座)

^{18}F -fluoro-deoxyglucose (FDG) をトレーサーとする positron emission tomography (PET) は、癌の画像診断、特に放射線治療効果や手術後の評価において CT や MRI をはるかに凌ぐ能力を発揮する。しかしながら、癌細胞の生物学的特性がどのように FDG 集積に反映されているか、その詳細については不明な点が多かった。本研究は、腫瘍細胞の細胞周期に着目し、従来から核医学で使われてきた腫瘍トレーサーの ^{67}Ga citrate (Ga) と比較し、FDG 集積の細胞周期依存性を明らかにしたものである。

培養腫瘍細胞として HeLa S3 を用い、thymidine による S 期ブロッキング法により細胞同調を図った。各ステージに同調された細胞に FDG あるいは Ga を投与し、30 分間培養後、ガンマカウンターにて放射能を測定した。FDG と Ga の細胞内集積を比較したところ、FDG は、S 期と G2/M 期に、Ga は G2/M 期に最大の集積を示したが、G1 期には両トレーサーとも集積が低下することが示された。FDG 集積の細胞周期依存性は、グルコース輸送タンパク・タイプ 1 活性に類似していることから、FDG 集積は少なくともこのタンパクを介していることが示唆された。

これらの成績は、細胞分裂頻度の高い腫瘍、すなわち癌の進行が早いと予測される腫瘍では、FDG あるいは Ga の集積量が上昇することを意味している。本研究は、口腔癌の PET あるいは SPECT 像を読影する上での基礎的データを提供するものであり、学位論文に値すると評価した。

試験・試問の結果の要旨

本研究について、研究内容や今後の研究の発展性と関連する一般問題について試問したところ、的確な解答が得られた。したがって十分な学識と研究能力を有していると思われ、学位授与に値すると認めた。