

論文要旨等報告書

氏	片嶋 和典
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与の番号	博 甲 第 4 3 4 3 号
学位授与の日付	平成 2 3 年 3 月 2 5 日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻(学位規則第4条第1項該当)
学位論文題名	温熱処理によるapoptosis、necrosis発現時におけるADC値の変化に対する細胞外空間の役割に関するin vitro 研究
論文審査委員	教授 北山 滋雄 准教授 辻極 秀次 教授 浅海 淳一

学位論文内容の要旨

拡散強調画像は、腫瘍の診断に有用で、臨床的にしばしば用いられており、腫瘍組織において、ADC値が減少することは一般的に知られている。しかし、腫瘍組織においてADC値が低下する機序については、未だ判然とはしていない。従来の報告で用いられている方法は、人体と病理像との比較、実験動物における組織と画像の比較が主なものであるが、この方法では、組織中の細胞因子、細胞外空間の他、血流の影響などADCに影響を与える様々な因子が複合的に反映されてしまうため、ADC値を低下させる真の原因を特定するのは困難である。

今回の研究では、新規開発したゲランジェムを用いたバイオフィantomにより臨床装置にて、培養細胞 Jurkat の ADC 値を測定し、ADC 値に影響を与える原因として、特に細胞内因子、細胞外空間の役割に焦点を当てて検討した。細胞株には Jurkat cell を用い、撮像は臨床 1.5T MRI 装置と head coil を用いて、multi shot EPI のシークエンスにより拡散強調画像を撮像し、ADC map を作成した。

細胞密度の増加に従って、ADC 値が直線的に低下し、さらに $3\mu\text{m}$ 以下の細胞間距離になると、細胞外空間における水の拡散制限が加わり、ADC 値は細胞密度の変化に加えて、さらに強く低下した。超音波処理により細胞構造を破壊し、細胞成分のみの ADC 値を検討した結果、細胞構造の作る ADC 値と細胞成分の作る ADC 値の割合はほぼ半々であることが明らかとなった。

腫瘍に対する各種の治療後に、組織内でアポトーシスあるいはネクローシスがおこり、ADC 値が増加するとの報告があるが、その機序は明らかではない。

今回 Jurkat 細胞加温後のアポトーシスおよびネクローシスによる ADC 値の変化とその機序について検討した。48°C の加温処理により、Annexin V-enhanced green fluorescent protein と propidium iodide で二重染色されるネクローシスが増加し、ADC 値は加温後の時間とともに増加した。42°C の加温処理では、AV のみに染まり、budding を伴うアポトーシス細胞が増え、アポトーシス小体と思われる小粒子が増加した。細胞外空間での小粒子の増加により、アポトーシスが誘導された細胞のバイオフィantom内での密度は、無処理細胞のバイオフィantomの 1/2 程度に低下した。アポトーシス誘導時の ADC 値は、同じ密度の無処理細胞のバイオフィantomの ADC 値と比較して、細胞外空間への小粒子の混入により低下した。今回の結果は、アポトーシス時に発現する小粒子が ADC 値を低下させる際に、細胞外空間の役割が重要であることを示している。

細胞、細胞外空間、アポトーシス、ネクローシスなどさまざまな要因が ADC 値に影響を与えると報告がなされているが、すべて生体内での検討であり、そこには細胞外空間、毛細血管の血流、細胞外の還流、体動などさまざまな要因が複雑に影響しあった結果をみているにすぎなかった。本研究では、細胞とゲルによって均一な細胞外空間が形成されたバイオフィントムを用いて、ADC 値に対する影響を、細胞と細胞外空間の関係に焦点を当てて検討した。細胞を用いて ADC 値を計測した報告としては、単一細胞をマイクروسコピで観察した報告、または hollow fiber を用いて観察した報告があるが、細胞を用いて、密度変化と ADC 値の関係を調べた報告はない。これは、我々が開発したようなゲルを用いない限り、細胞を空間に均一に配置させることが不可能だからである。ゲルを用いることで細胞密度を自由に変化させて、細胞外空間と細胞内空間の比率を任意に変えることができ、両者の ADC 値に対する影響をあきらかにすることができると思った。

生体内の組織の ADC 値に影響を与える要因としては、細胞の内容、膜構造、細胞外空間のほかに、細胞の支持組織や血管の中の血流が大きな要因となる。今回の研究では、細胞の内容、膜構造、細胞外空間のみを検討した。今後影響を与える他の様々な因子を別々に解析したうえで、複合的に解釈することが必要である。

ADC 値の変化の要因は未だ明らかにはなっていない。今回の実験は、細胞外空間が ADC 値に及ぼす具体的な影響の程度、またネクローシス時に細胞膜が破綻することにより ADC 値が増加すること及び、アポトーシスを起こすと細胞小粒子が増加し、ADC 値に影響を及ぼすことを明らかにした初めての報告である。