

(様式4)

学位論文の内容の要旨

Tiara Bunga Mayang Permata 印

(学位論文のタイトル)

Inter-assay precision of clonogenic assays for radiosensitivity in cancer cell line A549

(A549癌細胞株におけるコロニー形成法による放射線感受性評価の研究間正確性の解析)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

【背景】近年、コンピュータ・サイエンスの発展にともない、がん治療の個別最適化のためのビッグデータ活用が進んでいる。化学療法の分野においては、次世代シーケンサー解析により取得された膨大ながんの遺伝子変異情報が無料で公開され、分子標的治療の開発研究に活用されている。一方、放射線治療の分野においては、がんの放射線感受性に関する研究が盛んにおこなわれてきたが、治療の個別化に利用可能な放射線感受性ビッグデータは存在しない。コロニー形成法はがん細胞の放射線感受性評価の標準的手法であり、培養細胞実験系におけるコロニー形成法の結果は臨床における腫瘍の放射線治療応答性と相関することから、コロニー形成法によるがん細胞の放射線感受性データベースの有用性が示唆される。しかし、コロニー形成法データを研究間で比較することの妥当性は明らかでない。本研究では、コロニー形成法データの研究間比較妥当性の解明を目的とし、網羅的文献検索と反復実験により得た単一のがん細胞株のコロニー形成法データを解析した。

【方法】Cancer Cell Line Encyclopediaに登録されたヒトがん細胞株1039種について、コロニー形成法で放射線感受性が評価され査読有り英語学術雑誌に掲載された科学論文を抽出し、該当論文数が最も多かったA549細胞株について解析した。放射線感受性の評価エンドポイントとして2Gy, 4Gy, 6Gy, 8Gy照射時の細胞生存率 (SF₂, SF₄, SF₆, SF₈)、および細胞生存率が10%, 50%となる放射線量 (D₁₀, D₅₀) の情報を取得した。また自施設でもA549細胞をもちいて単一の実験パラメーター (X線、線量率1.14 Gy/min、照射前播種法) でコロニー形成法を20回反復し、同様に評価エンドポイント情報を取得した。科学論文ならびに自施設での実験から取得したデータについて、評価エンドポイントのcoefficient of variation (CV) を算出し、研究間比較妥当性を評価した。科学論文データについて、コロニー形成法の実験パラメーター (放射線種、線量率、放射線照射と細胞播種の順序) が放射線感受性に与える影響を重回帰分析で解析した。

【結果】コロニー形成法によりA549細胞の放射線感受性を評価した192報の科学論文において、使用された放射線種はX線が61%、 γ 線が39%だった。線量率の平均値 \pm 標準偏差は 2.2 ± 2.2 Gy/minだった。細胞播種法は、照射前、照射後がそれぞれ72%、28%だった。SF₂, SF₄, SF₆, SF₈, D₁₀, D₅₀の平均値 \pm 標準偏差はそれぞれ 0.67 ± 0.14 , 0.35 ± 0.17 , 0.17 ± 0.11 , 0.080 ± 0.079 , 7.3 ± 1.6 , 3.5 ± 1.1 だった。一方、自施設実験におけるSF₂, SF₄, SF₆, SF₈, D₁₀, D₅₀の平均値 \pm 標準偏差はそれぞれ 0.71 ± 0.12 , 0.37 ± 0.12 , 0.18 ± 0.08 , 0.070 ± 0.051 , 7.23 ± 1.3 , 3.1 ± 0.76 だった。

科学論文データにおけるSF₂, SF₄, SF₆, SF₈, D₁₀, D₅₀のCVはそれぞれ21%、47%、69%、95%、22%、31%だった。一方、自施設実験データにおけるSF₂, SF₄, SF₆, SF₈, D₁₀, D₅₀のCVはそれぞれ17%、32%、49%、70%、17%、24%だった。両データセットにおいてCVはSF₂ < SF₄ < SF₆ < SF₈およびD₁₀ < D₅₀の傾向を示し、SF₂とD₁₀のCVは30%以下だった。科学論文データについて実験パラメーターが評価エンドポイントに与える影響を重回帰分析したところ、細胞播種前の照射は、細胞播種後の照射と比較し、有意にSF₂を低下させた ($P = 0.04$)。

【考察】本研究結果から、コロニー形成法のSF₂およびD₁₀のCVは実験パラメーターの異なる研究間でも30%を下回ることが示唆された。米国食品医薬品局のBioanalytical Recommendationsにおいて、CVが30%以下の検査指標はバイオマーカーとして許容される。以上から、コロニー形成法のSF₂およびD₁₀は放射線感受性バイオマーカーとして研究間で比較可能であることが示唆された。また放射線照射と細胞播種の順序はSF₂解析時の交絡因子となりうることが示唆された。本研究結果をもとに、今後は既発表データを利用してがん細胞株の放射線感受性データベースを構築し、放射線治療の個別最適化のための研究を推進していきたい。

【結論】網羅的文献解析と反復実験の結果、A549細胞株におけるコロニー形成法のSF₂、D₁₀のCVは30%以下であった。このことから、コロニー形成法のSF₂、D₁₀は放射線感受性バイオマーカーとして研究間で比較可能であることが示唆された。本研究結果は放射線治療の個別最適化のための重要な生物学的基盤情報となると考えられる。