

論 文 内 容 要 旨

Suplatast tosilate reduces radiation-induced lung injury in mice through suppression of oxidative stress

(スプラタストトシル酸塩は、酸化ストレスを抑えることでマウス放射線肺障害を軽減する)

Free Radical Biology and Medicine, 2019, in press.

主指導教員：服部 登教授

(医系科学研究科 分子内科学)

副指導教員：永田 靖教授

(医系科学研究科 放射線腫瘍学)

副指導教員：藤高 一慶講師

(医系科学研究科 分子内科学)

泉 祐介

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

放射線は肺癌や乳癌をはじめとする胸部悪性腫瘍の治療において重要な役割を担っているが、放射線は抗腫瘍効果と同時に正常組織への傷害性も有する。放射線肺障害には放射線肺臓炎と放射線肺線維症が含まれ、放射線肺線維症は放射線肺臓炎の修復機転と理解されている。放射線肺障害の発症頻度や重症度は照射線量、照射範囲や回数、間隔、化学療法の併用の有無など多様な因子に関連し、治療には一般にステロイドが用いられるが確立したエビデンスはない。

放射線は DNA を直接的に傷害するとともに、組織中の水分子から活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) を発生させ間接的にも傷害を与える。放射線による傷害のうちおよそ 60-70% が ROS によるとされており、放射線肺障害の動物モデルにおいて ROS をターゲットとした治療の有用性が報告されているが、臨床応用されている薬剤は存在しない。

スプラタストトシル酸塩は Th2 サイトカイン阻害作用を有する抗アレルギー薬であり、本邦では気管支喘息やアレルギー性鼻炎に対して広く使用されている。当教室の以前の検討でスプラタストトシル酸塩は、マウス高濃度酸素肺障害モデルにおいて生存延長作用を示し、その機序は同薬剤の ROS 消去作用に基づくものであった。以上の知見から我々は、スプラタストトシル酸塩が抗酸化作用により放射線肺障害を軽減するという仮説を立てた。

まず、スプラタストトシル酸塩の放射線照射に対する細胞保護効果をマウス肺胞上皮様細胞である LA-4 細胞を用いて検証した。LA-4 細胞を一定数播種し接着後、培地中にスプラタストトシル酸塩を添加しその 2 時間後に放射線 30Gy を照射し、照射 72 時間後に細胞増殖能への影響を検証した。結果としてスプラタストトシル酸塩は、放射線照射に伴う細胞増殖能の低下を濃度依存性に抑制した。また、放射線照射 48 時間後に、細胞内の ROS と DNA 損傷を評価したところ、これらがいずれも抑制されていることが判明した。

続いてマウス放射線肺障害モデルにおけるスプラタストトシル酸塩の肺保護効果を検証した。C57BL/6 マウス (雌、8-10 週齢) をコントロール群、放射線照射群、放射線照射+スプラタストトシル酸塩 (100mg/kg/day) 投与群の 3 群に分け、経時的に肺胞洗浄液中の細胞分析やサイトカインの測定、肺コラーゲン定量などを行い各群で炎症や線維化の程度に差があるかを検証した。放射線照射は胸部に単回 15Gy で施行し、スプラタストトシル酸塩は飲料水中に溶解し、自由飲水法でサクリファイスするまで継続的に投与した。結果として、スプラタストトシル酸塩は放射線照射後 6 週の時点で肺組織の酸化ストレスマーカーの上昇を抑制し、照射後 18 週の時点で肺胞洗浄液中の炎症細胞の増加と炎症性サイトカインの上昇を抑えた。さらに、照射後 30 週の時点で肺の線維化を抑えていることが、線維化マーカーの測定と組織学的検討により示され、スプラタストトシル酸塩投与群では生存率が向上していた。併せて、スプラタストトシル酸塩がその抗酸化作用により放射線の抗腫瘍効果を減弱するかどうかを皮下腫瘍モデルを用いて検証した。C57BL/6 マウスを上記と同様に 3 群に分け、一定数のルイス肺癌細胞を側胸部に皮下接種し皮下腫瘍を作成した。皮下腫瘍を含む胸部に放射線 15Gy を照射し腫瘍体積の推移を約 4 週間観察した。結果としてコントロール群では腫瘍は著明な増大傾向を示したのに対して、放射線照射単独群と、放射線照射+スプラタストトシル酸塩投与群においてはほぼ同様に腫瘍の増大が抑制され、スプラタストトシル酸塩は腫瘍の放射線感受性に影響を与えないことが示された。

本研究の結果からスプラタストシル酸塩が、*in vitro*において放射線照射による酸化ストレスおよび DNA 損傷を抑え細胞増殖能低下を抑制すること、また *in vivo*においても放射線照射後の肺の酸化ストレスの軽減に引き続き炎症を抑え、組織学的な線維化を防ぎ生存率を向上させることが示された。

放射線照射により生じた ROS とこれに引き続く酸化ストレスは、サイトカインや成長因子の産生を惹起し炎症や線維化を引き起こす。よって本研究で示された放射線肺障害の抑制効果は、主としてスプラタストシル酸塩の ROS 消去作用によるものと考えられる。ただし DNA 損傷もサイトカインを誘導するため、スプラタストシル酸塩の抗炎症・抗線維化作用には DNA 損傷の軽減も関与している可能性がある。

スプラタストシル酸塩の酸化ストレス抑制効果とこれに引き続く抗線維化作用は、放射線肺障害だけではなく酸化ストレスが関与する他の病態においても有用な治療法となりうる。