

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	泉 祐介
学位授与の条件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目 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)			
論文審査担当者			
主 査	教授 岡田 守人	印	
審査委員	教授 松浦 伸也		
審査委員	准教授 横崎 典哉		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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、抗腫瘍効果と同時に正常組織への傷害性も有する。放射線が惹起する肺障害には放射線肺臓炎と放射線肺線維症が含まれるが、放射線肺線維症は放射線肺臓炎の慢性機転と理解されており、不可逆的な線維化病変を伴っている。</p> <p>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およそ 60-70% は ROS が寄与するものとされており、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。</p> <p>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。著者らは過去に、スプラタストトシル酸塩が ROS 消去作用を有し、マウス高濃度酸素肺障害モデルにおいては生存を延長させる効果を示すことを報告してきた。この知見を基に、スプラタストトシル酸塩が抗酸化作用を呈することで放射線肺障害を軽減するのではないかとの仮説を立て、著者らは本研究を実施した。</p> <p>まず著者らはマウス肺胞上皮様細胞である LA-4 細胞を用いて、スプラタストトシル酸塩が放射線照射に対して細胞保護効果を呈するのかを検証した。LA-4 細胞を一定数播種し付着を確認した後、培地中にスプラタストトシル酸塩を添加した。その 2 時間後に放射線 30Gy を細胞に照射し、照射 72 時間後に生細胞数を測定した。放射線照射によって生細胞数の著明な減少を認めるが、スプラタストトシル酸塩はその減少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 産生と DNA 損傷の程度を評価したところ、放射線照射によって上昇するこれらの程度がスプラタストトシル酸塩の存在下ではいずれも抑制されていることも判明した。</p> <p>続いて著者らはスプラタストトシル酸塩がマウス放射線肺障害モデルにおいて肺への保護効果を示すかを検証した。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炎症細胞の分析とサイトカインの測定、肺組織内の酸化ストレスマーカーの測定とコラーゲン量の定量、さらに肺組織学的検討を行った。放射線は 15Gy を胸部に単回照射し、スプラタストトシル酸塩は飲料水中に溶解し、自由飲水法で屠殺するまで継続的に投与した。この結果、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ることがわかった。また、照射後 30 週の時点では肺コラーゲン量の定量と組織学的検討によって、スプラタストトシル酸塩が肺の線維化を抑制していることも明らかとなった。照射から 30 週間の観察においては、スプラタストトシル酸塩投与群のマウスの</p>			

生存率が非投与群に比して明らかに良好であることも判明した。

併せて著者らは、マウスの皮下腫瘍モデルを用いて、スプラタストトシル酸塩が放射線による抗腫瘍効果を減弱させないかどうかを検証した。C57BL/6 マウスの側胸部に一定数のLewis肺癌細胞を皮下接種し皮下腫瘍を形成させた後、上記と同様の3群に分け、腫瘍体積の推移を4週間観察した。放射線は皮下腫瘍を含む胸部に15Gyを照射した。この結果、腫瘍体積の増大速度は、コントロール群に比して、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ほぼ同程度に抑制されることが判明し、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唆された。

本研究において、1) *in vitro* において、スプラタストトシル酸塩が放射線照射による細胞内のROS産生とDNA損傷の程度を抑え細胞増殖能の低下も抑制すること、2) *in vivo* において、スプラタストトシル酸塩が、放射線照射後の肺内の酸化ストレスマーカーの上昇、炎症と線維化の程度を抑制し、さらに放射線照射を受けたマウスの生存率を向上させること、が示された。この結果は、スプラタストトシル酸塩が放射線肺障害の予防ならびに治療法として応用できる可能性を示唆するものである。

以上より、本論文は、既に臨床で汎用されているスプラタストトシル酸塩が酸化ストレスを抑制することで放射線肺障害を予防ならびに治療する可能性を新たに提唱した点で高く評価される。

よって審査委員会委員全員は、本論文が泉 祐介に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値があるものと認めた。