

氏名・(本籍) 邵 啓 全 (朝鮮)  
 学位の種類 博士 (医学)  
 学位記番号 博士 第236号  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
 学位授与年月日 平成9年3月24日  
 学位論文題目 放射線照射後のマウス肺内におけるニトロキシドラジカル還元の動態解析  
 —L-バンド電子スピン共鳴装置を用いて—

審査委員 主査 教授 犬 伏 俊 郎  
 副査 教授 木 村 博  
 副査 教授 森 田 陸 司

## 論文内容の要旨

### 【目的】

近年、マウス肺内にニトロキシドラジカルを還元する系が存在することが L - バンド電子スピン共鳴装置 (Electron Spin Resonance ; 以下 ESR) を用いて明らかにされた (1991, Takeshita K, et al)。今回我々は、マウス肺内におけるニトロキシドラジカル還元能が放射線照射後にどのように変化するかを L - バンド ESRを用いて観測し、放射線肺傷害発生機序との関連性から検討を加えた。また、アスコルビン酸などのラジカルスカベンジャーによる還元能への影響についても検討した。

### 【方法】

ニトロキシドラジカルとしては hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxyl (以下 hydroxy-TEMPO) を用いた。雌 ICR マウスを頸椎脱臼にて屠殺後、頸部切開にて気管内に挿入したポリエチレンチューブからニトロキシドラジカル溶液 (hydroxy-TEMPOを5mMになるように等張リン酸緩衝液に溶解) 0.9 ml を肺内に注入し、気管を結紮、直ちに L - バンド ESRを用いて胸部における hydroxy-TEMPO のスペクトルを経時的に観測した。観測は、8 週齢、12 週齢の非照射群 (コントロール群、8週齢がn=7、12週齢がn=3)、8 週齢で 2 Gy または 10 Gy を胸郭にのみ照射した群 (照射群) のそれぞれ 照射直後、1、2 時間後、1、3 日後、1、2、3、4 週間後 (それぞれの観測時で n=4~7) に行った。また、ラジカルスカベンジャーとしてアスコルビン酸 (40 mg/kg)、 $\alpha$ -トコフェロール (60 mg/kg)、またはグルタチオン (100 mg/kg) を投与した 8 週齢のものも 2 Gy 照射直後に観測し、同条件の非照射のものと比較した (n=4~5)。

### 【結果】

hydroxy-TEMPO の時間—相対的シグナルピーク値 (対数值) グラフの傾きからそれぞれの 1 次反応消失速度定数を求めた。コントロール群では、8週齢が $0.118 \pm 0.012 \text{min}^{-1}$ 、12週齢が  $0.113 \pm 0.012 \text{min}^{-1}$ であり、両週齢間に統計学的有意差 (t検定、 $p < 0.05$ ) は認めなかった。2Gy 照射群と 10Gy 照射群の 1 次反応消失速度定数の経時変化は、両群ともに照射後一時的に減少する (2Gy が $p < 0.01$ 、10Gyが $p < 0.05$ ) が、その後数時間または 1日後までにコントロール群とほぼ同等なレベルまでいったん回復した。10Gy 照射群はその後再び徐々に減少し続ける ( $p < 0.05$  or  $0.01$ ) が、2Gy 照射群は同様に再び徐々に減少する ( $p < 0.05$ ) も照射 2 週間後以降は再度増加し回復傾向を示した。また、ラジカルスカベンジャー投与群に関しては、アスコルビン酸投与2Gy照射直後のものがコントロール群と比べ 1 次反応消失速度定数  $0.089 \pm 0.011 \text{min}^{-1}$  (n=4) と有意な減少を示した ( $p < 0.001$ ) もの、非投与2Gy 照射直後の $0.069 \pm 0.008 \text{min}^{-1}$  (n=4) と比べると速度定数の減少が有意に軽減された ( $p < 0.05$ )。一方、 $\alpha$ -トコフェロール、またはグルタチオン投与2Gy 照射直後のものは非投与2Gy 照射直後のものと比べ速度定数に有意差を認めなかった。

### 【考察】

マウスの肺に照射するとそこに生じたフリーラジカルを消去するための防御機構が活性化するも

のと考えられる。一方、マウス肺内に注入したニトロキシドラジカルの消失速度は2Gy照射群も10Gy照射群もともに照射後一時的に低下した。これは、照射によって大量に生じたフリーラジカルの消去のためにその防御機構が消費されるため、外因性のニトロキシドラジカルを還元するには一時的に不十分な状態となり消失速度が低下したのではないかと推測される。また、10Gy照射群において消失速度は照射後の一時的な低下からいったん回復した後再び徐々に低下し続けるが、これは肺胞上皮細胞が照射により障害され不可逆な変性を来したためにそのニトロキシドラジカル還元系の活性が低下したことによるものと推測される。一方、2Gy照射群においては肺胞上皮細胞の照射による障害が可逆的であったためにそのニトロキシドラジカル還元系の活性も回復し、消失速度が照射2週間後以降は再度上昇傾向を示したのではないかとと思われる。ラジカルスカベンジャーに関しては、アスコルビン酸投与群において2Gy照射直後にニトロキシドラジカルの消失速度の低下の抑制がみられた。このことにより、アスコルビン酸が放射線肺障害の予防、軽減に役立つという可能性が示唆されたものと考えられる。

#### 【結 論】

- 1) 放射線照射後のマウス肺内におけるニトロキシドラジカル還元能の経時的な変化と放射線肺障害の程度(可逆・不可逆性)は相関するものと思われた。
- 2) 少なくとも40mg/kgアスコルビン酸投与は放射線肺障害の予防、軽減に有用であると考えられた。他のラジカルスカベンジャーに関しては種類、投与量、投与方法など今後の更なる検討が必要である。

### 論文審査の結果の要旨

肺癌などの放射線治療においてしばしば併発する放射線肺炎などの障害は避けることのできない問題である。しかしその発生機序は未だ解明されていないため、有効な予防法や治療法がないのが現状である。もしこの問題が解決されれば、肺癌などの悪性腫瘍に対してより多くの照射が可能となり、しいては局所制御率の向上にもつながるものと考えられる。本研究では、マウス肺内ニトロキシドラジカル還元能の照射後の経時的変動をin vivoでのフリーラジカル測定が可能なL-バンド電子スピン共鳴装置(以下L-バンドESR)を用いて追跡し、放射線肺障害との関連を明らかにするとともに、その予防薬としてラジカルスカベンジャーの還元能への影響をも検討した。

2Gyまたは10Gy照射後マウス肺内に経気管的に注入したニトロキシドラジカルの消失速度は一時的に減少した。すなわち肺内ニトロキシドラジカル還元能は照射後一時的に低下し、それぞれ数時間後または1日後までにいったん回復した。10Gy照射の場合、還元能はその後再び徐々に低下し続けた。一方、2Gy照射の場合、還元能は同様に再び徐々に低下するも照射2週後以降は再度回復傾向を示した。また種々のラジカルスカベンジャーを検討した結果、アスコルビン酸40mg/kgを照射前静脈内投与した群に照射後の一時的なニトロキシドラジカル還元能低下の軽度抑制が観られた。このことより放射線肺障害の予防、軽減にアスコルビン酸が有用であることが示唆された。

本研究は、放射線肺障害を解析する新しい方法を開発し、その発生機序の解明に新たな手がかりを得るとともに、放射線肺障害の予防にアスコルビン酸の投与が有効であることを示唆したものであり、博士(医学)の学位論文として価値あるものと認められる。