



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1504号
学位記番号	第1075号
氏名	宮本 大模
授与年月日	平成 27年 9月 25日
学位論文の題名	<p>The relationship between the severity of radiation-induced oral mucositis and the myeloperoxidase level in rats (ラットモデルにおける放射線性口腔粘膜炎重症度とミエロペルオキシダーゼの相関性について)</p> <p>Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology (accept for publication)</p>
論文審査担当者	主査： 芝本 雄太 副査： 村上 信五, 渋谷 恭之

論文内容の要旨

【目的】

放射線性口腔粘膜炎は放射線照射により発生したフリーラジカルが、腫瘍細胞だけでなく正常粘膜上皮基底細胞のアポトーシスを引き起こすために発症すると考えられている。今回、照射後に発生するさまざまなフリーラジカルの中において、強力な細胞障害能力を有する次亜塩素酸に着目し、その次亜塩素酸を産生するのに必要な酵素である Myeloperoxidase (MPO) が放射線性口腔粘膜炎の発症や重症化に関連しているのではないかと考え、放射線性口腔粘膜炎の重症度と MPO の相関性を明らかにすることを目的に本研究を立案した。

【方法】

① 放射線性口腔粘膜炎における重症度別の動物実験モデルの作成

F344 ラット、雌性、8 週齢を用い、全身麻酔後に舌以外の部分を鉛板で遮蔽し、舌の右側面より、0Gy (コントロール)、10Gy、18Gy、30Gy の X 線を単回照射した。照射後には体重変化率、舌の肉眼的所見を記録し、放射線性口腔粘膜炎における重症度別動物実験モデルとして使用できるかを検討した。

② 上記動物実験モデルを用いた Oral Mucositis Index (OMI) および MPO の測定

上記動物実験モデルを用いて、照射直後、1 日後、2 日後、7 日後、10 日後、13 日後の口腔粘膜炎の状況を冷光下で写真撮影し、Parkins らの報告に準じて OMI を用いたグレード評価を行った。また MPO 活性測定キット (バイオリサーチプロダクト社) を使用し、同様のスケジュールでラットを安楽死後、舌組織をホモジュナイズし、12,000g で遠心分離をかけ、吸光度計を用いて MPO 量を測定した。

【結果】

① 放射線性口腔粘膜炎における重症度別の動物実験モデルの作成

体重はコントロール群において徐々に増加した。一方、全ての放射線照射群において照射直後に体重は減少し、照射 3 日後まではほぼ変化なく推移した。しかし口腔粘膜炎が発症し始める 4 ~ 5 日後以降は 10Gy 照射群で体重の増加傾向を認めたが、18Gy 照射群では照射 9 日後まで、30Gy 照射群では照射 11 日後まで体重減少が続いた。

肉眼的に照射直後、1 日後、2 日後ではどの照射群においても口腔粘膜炎を認めなかったが、10Gy 照射群では 7 日後に舌粘膜のわずかな発赤が見られ、10 日後に改善を認めた。18Gy 照射群では 7 日後に粘膜上皮の欠落を認めたが 10 日後には上皮化がすすみ、13 日後にはほぼ治癒を認めた。30Gy 照射群では 7 日後に粘膜上皮の欠落を認めたが、7 日後よりも 10 日後の方が上皮の欠落範囲は広がっており 13 日後においても発赤が残存していた。

② 上記動物実験モデルを用いた OMI および MPO の測定

すべての実験群において OMI は照射直後、1 日後、2 日後は 0 であったが、7 日後に上昇を認め、コントロール群と比較して 18Gy、30Gy 照射群では有意に大きい値を示した。10 日後、13 日後においてはコントロール群よりも 18Gy 照射群、18Gy 照射群よりも 30Gy 照射群において有意に大きい値を示した。

MPO 量においては、照射直後、1 日後においてはすべての群の間に有意差は認めなかったが、2 日後においてはコントロール群と比較し、18Gy 照射群、30Gy 照射群で有意な増加を認めた。7 日後においてはコントロール群よりも 10Gy 照射群、10Gy 照射群よりも 18Gy 及び 30Gy 照射群の MPO が有意に増加しており、10 日後においては線量に応じてすべての群間で有意差を認めた。13 日後においてはコントロール群及び 10Gy 照射群よりも 18Gy 照射群、18Gy 照射群より

も 30Gy 照射群の方が有意に増加していたが、コントロール群と 10Gy 照射群の間に有意差は認めなかった。

なお OMI と MPO の Spearman 相関係数は 0.824 であった。

【考察】

今回のラットを用いた実験は重症度別の放射線性口腔粘膜炎を認めており、動物実験モデルとして有用であった。また組織内の MPO は照射直後から大量に放出されるのではなく、照射 2 日後程度より徐々に組織内に放出し、ある一定期間経過後減少に転じており、照射線量が多いほど MPO 量が多かった。ただし MPO の増加開始時期は肉眼的に口腔粘膜炎が発症する時期より先行し、さらに MPO 量と口腔粘膜炎の重症度が相関していたことから、MPO により産生された次亜塩素酸が細胞の DNA を強力に破壊することにより口腔粘膜炎が発症し、その MPO の量に応じて粘膜炎が増悪しているのではないかと考えられた。

論文審査の結果の要旨

【目的】

放射線照射後に発生するさまざまな活性酸素種の中において、強力な細胞障害能力を有する次亜塩素酸に着目し、その次亜塩素酸を産生するのに必要な酵素である Myeloperoxidase (MPO) が放射線性口腔粘膜炎の発症や重症化に関連しているのではないかと考え、放射線性口腔粘膜炎の重症度と MPO の相関性を明らかにすることを目的に本研究を立案した。

【方法】

- ① 放射線性口腔粘膜炎における重症度別の動物実験モデルの作製を試みた。
- ② 上記動物実験モデルを用いた Oral Mucositis Index (OMI) および MPO の測定を行った。
- ③ OMI と MPO の関連について検討した。

【結果】

- ① 放射線性口腔粘膜炎における重症度別の動物実験モデルの作製
10Gy、18Gy、30Gy の放射線をラット舌に照射したところ、それぞれ重症度の異なる口腔粘膜炎を惹起させることに成功した。
- ② 上記動物実験モデルを用いた OMI および MPO の測定
照射 2 日目において MPO では OMI に先行して、18Gy 照射群および 30Gy 照射群で有意な上昇を認めた。両者ともに照射線量が多くなるにつれて最大値があがり、炎症が遷延化している結果を示した。
- ③ OMI と MPO の関連
口腔粘膜炎が重症化するにつれて組織内の MPO 量も増加する傾向を認め、両者は相関関係を示し、スピアマンの相関係数は 0.824 であった。

【考察】

今回、ラット舌に対して異なる線量の放射線を照射することで、重症度の異なる口腔粘膜炎の発症モデルを作製することができた。作製した実験モデルを用いて組織内の MPO を測定したところ、MPO は照射直後から大量に放出されるのではなく、照射 2 日後程度より徐々に組織内に放出し、ある一定期間経過後減少に転じており、照射線量が多いほど MPO 量が多い結果となった。MPO の増加開始時期は肉眼的に口腔粘膜炎が発症する時期より先行し、さらに MPO 量と口腔粘膜炎の重症度が相関していたことから、MPO により産生された次亜塩素酸が細胞の DNA を強力に破壊することにより口腔粘膜炎が発症し、その MPO の量に応じて粘膜炎が増悪している可能性が考えられた。また肉眼的所見に先行して組織内の MPO 量が増加したことから MPO 測定を臨床応用することで、より早期に口腔粘膜炎の重症度を判断できるようになる可能性が期待される。

【審査の内容】

主査の芝本より放射線照射による酸化ストレス等について第 8 項目、第一副査の村上教授から MPO の構造や機能、関連する疾患等について第 10 項目、第二副査の渋谷教授からは口腔癌治療に対する抗腫瘍効果と有害事象の関連等について第 2 項目の質問があり、これらに対しても適切な回答が得られた。従って、学位申請者は学位論文について十分理解していると同時に、口腔外科学に関する知識を有していると考えられた。本研究は、重症度の異なる口腔粘膜炎ラットモデルの開発に成功するなど、今後臨床応用可能な治療法開発に役立つ意義のある研究と言える。以上をもって本論文の著者は博士（医学）の称号を与えるに相応しいと判断した

論文審査担当者 主査 芝本 雄太 副査 村上 信五 渋谷 恭之