

○プロジェクト研究0532-1

研究課題 「放射線治療の治療可能比の改善に関する研究」

サブテーマ 「放射線感受性に対するグルタチオンの効果の研究」

○研究代表者 教授 窪田 宜夫

○研究分担者 医科学センター 助手 相良 順一

○研究年度 平成18年度

(研究期間) 平成17年度～平成19年度(3年間)

1.研究目的

グルタチオンは生体内に広く分布するトリペプチドであり、生体防御の中核を担っている。グルタチオンはグルタチオンペルオキシダーゼとグルタチオン S トランスフェラーゼの基質となることで、抗酸化作用を発揮する。グルタチオンペルオキシダーゼは過酸化物を消去し、グルタチオン S トランスフェラーゼは過酸化物から生じる細胞傷害性アルデヒドを消去する。放射線による傷害も酸化的傷害であり、放射線照射によっても活性酸素が発生し、酸化的ストレスにより細胞が傷害を受けている事例が報告されている。

放射線照射による癌治療は有効であるが、増殖が盛んな正常細胞にも傷害が起こることが問題になっている。造血幹細胞である骨髄も増殖能が高く、放射線により傷害が起こる。生体内の骨髄細胞は骨髄間質細胞と成長因子などにより密接に関係して、分化の調節を受けている。ベンゾピレンやヒドロキノンによって起こる血球細胞の形成異常に活性酸素が関与しており、骨髄間質細胞の抗酸化作用が重要である可能性が報告されている。

骨髄間質細胞のグルタチオンも抗酸化作用に重要であると思われる。放射線感受性にも影響を与えると思われる。昨年の研究で、培地にグルタチオンを添加すると、骨髄間質細胞内のグルタチオン量の増加にともなう放射線感受性の軽減がみられることを報告した。そこで、骨髄間質細胞の放射線感受性とグルタチオンとの関係を明らかにするために、今年度は骨髄間質細胞の放射線感受性とグルタチオン量の変化を調べた。

2.研究方法

ラットの大腿骨より骨髄間質細胞を取り出し培養した。骨髄間質細胞をディッシュにまき、3日間培養し、実験に用いた。

グルタチオンを枯渇させるため、合成阻害剤である Buthionine sulfoximine を添加して培養した。また、細胞内グルタチオン量を増やすためにグルタチオンを添加した。骨髄間質細胞のグルタチオン量は Tietze の方法を用いて測定した。細胞傷害は MTT 法により測

定した。

3. 研究結果

骨髄間質細胞に 6Gy の X 線を照射すると細胞傷害が見られたが、X 線の照射による細胞内グルタチオン量の変化は見られなかった。10 mM グルタチオンを添加することにより、骨髄間質細胞のグルタチオン量は 5 倍に増加し、細胞傷害の軽減が見られたが、グルタチオン量の増加は一過性のものであり、24 時間後にはグルタチオン量はグルタチオンを添加する前の量に戻った。Buthionine sulfoximine を添加すると細胞内グルタチオン量が枯渇し、放射線感受性の増加が見られた。Buthionine sulfoximine を取り除いても、細胞内グルタチオン量は減少したままだった。

4. 考察

グルタチオンの添加によりグルタチオン量が増加した骨髄間質細胞が X 線照射に対する耐性を示した。一方、Buthionine sulfoximine によりグルタチオンを枯渇させた細胞では感受性が高くなった。このことは、骨髄間質細胞内のグルタチオンが X 線に対する防御に重要である可能性を示唆している。

これまで多くの細胞で酸化ストレスにより細胞内グルタチオン量が増加することが報告されてきた。しかし、骨髄間質細胞では X 線の照射によって細胞内グルタチオン量が増加することはなかった。グルタチオンの添加により細胞内のグルタチオン量を増加させることができるが、すぐにもとの量に戻ってしまった。このことは、骨髄間質細胞では放射線に対するグルタチオン代謝の応答が低いことが示唆される。

これらの結果は、グルタチオンにより放射線感受性を軽減させるためには事前に細胞内グルタチオン量を増加させる必要があることを示していると思われる。今後は、放射線に対するグルタチオン代謝の応答を高め、より効率的に長期にわたり細胞内グルタチオン量を増やし、放射線による細胞傷害の軽減に役立つ手法を考案したい。