

岩下 淳二 論文内容の要旨

主論文

Induction of micronuclei in CHO cells by bleomycin but not by X-irradiation is decreased by treatment with HMG-CoA reductase inhibitors

HMG-CoA 還元酵素阻害剤は X 線誘発微小核形成は抑制しないがブレオマイシン誘発微小核形成は抑制する

岩下 淳二、児玉 靖司、中嶋 幹朗
佐々木 均、谷山 紘太郎、渡邊 正己

掲載予定雑誌名 Journal of Radiation Research

長崎大学大学院医学研究科生理系専攻
(指導教授：谷山 紘太郎 教授)

1. 緒言

高脂血症は動脈硬化のリスクファクターの 1 つであり、これには酸化型 LDL の関与が知られている。生体内における酸化型 LDL の産生にはフリーラジカルが関与すると考えられることから、抗高脂血症作用に抗酸化作用が加わると、より効果的な動脈硬化予防が期待できると考えられる。

本研究では、3-ハイドロキシ-3-メチルグルタリルコエンザイム A (HMG-CoA) 還元酵素阻害作用により、高脂血症治療薬として臨床で使用されているプラバスタチンナトリウム(PSS)、及びフルバスタチンナトリウム(FSS)の抗酸化作用に着目した。もし、これらの薬剤に明らかな抗酸化作用が見られるとすれば、新しい臨床応用が期待されることになる。そこで本研究では、両薬剤がブレオマイシン、及び X 線によって誘発されるラジカルにどのような影響を与えるかについて微小核試験を用いて検討した。

2. 材料と方法

(1) 細胞生存率

対数増殖期にあるチャイニーズハムスター卵巢由来(CHO-K1)細胞に X 線照射、またはブレオマイシン 2 時間処理後、100mm デイッシュに播種してコロニー形成させた。2 週間後に細胞を固定染色し、コロニー数から生存率を算出した。

(2) 微小核試験

X 線誘発微小核形成に対する薬剤の前処理実験では、CHO-K1 細胞をフラスコ (75cm²) に播種して 24 時間培養後、PSS、あるいは FSS を添加して 2 時間後に X 線 3Gy を照射した。照射後直ちに通常の培地に戻し 2 µg/ml サイトカラシン B 溶液

を加えてさらに 24 時間培養することにより細胞質分裂を阻害して 2 核細胞を形成させた。また、後処理実験では、X 線照射後薬剤を添加して 2 時間処理後、同様に 2 核細胞を形成させた。

一方、ブレオマイシン誘発微小核形成に対する薬剤の前処理実験では、細胞をフラスコ (75cm²) に播種して 24 時間培養後、薬剤を添加し、2 時間後にブレオマイシン含有培地に交換した。2 時間後通常の培地に戻し、2 核細胞を形成させた。また、薬剤同時処理実験では、薬剤と同時にブレオマイシンを添加し、2 時間処理後 2 核細胞を形成させた。さらに、薬剤後処理実験では、ブレオマイシン 2 時間処理後薬剤を 2 時間処理し、通常の培地に戻した後、2 核細胞を形成させた。

(3) 微小核頻度

(2) の処理を行った細胞をカルノア液で固定後、ギムザ液で染色した。顕微鏡下で微小核を検出し、1000 個の 2 核細胞中の微小核を含む細胞数を算出した。

3. 結果

X 線、およびブレオマイシン 2 時間処理による細胞生存率を解析した結果、30% 生存率を与える条件は、X 線線量が 3Gy、ブレオマイシン濃度が 150 μ M であることが分かった。以後の薬剤の影響を調べる実験は、全てこの条件下で行った。

X 線による微小核形成に対する薬剤処理の影響を調べたところ、FSS、および PSS のどちらの HMG-CoA 還元酵素阻害剤も、前処理においても、また後処理においても全く微小核形成への影響が見られないことが分かった。

これに対して、ブレオマイシンによる微小核形成に対する薬剤処理の場合は、どちらの HMG-CoA 還元酵素阻害剤においても、前処理では影響が見られなかったものの、同時処理では用量依存的に微小核形成が抑制されることが分かった。さらに、後処理においては、比較的低濃度 (20 μ M) において、微小核形成が抑制されることが明らかとなった。

4. 考察

本研究は、高脂血症治療薬として臨床で使用されている HMG-CoA 還元酵素阻害剤である FSS と PSS が、ブレオマイシン誘発微小核形成を、同時処理、あるいは後処理した場合に抑制することを明らかにした。このことは、この 2 つの薬剤が、ブレオマイシンが産生するラジカルを消去能を有することを示唆している。しかしながら、本研究の結果は、これらの薬剤が X 線照射によって産生されるラジカル消去能は無いことを示唆している。このラジカル消去能の相違は、X 線とブレオマイシンによるラジカル産生の空間的および時間的な分布の相違を反映していると考えられる。これら 2 つの薬剤が、ブレオマイシン処理のような緩やかで持続的なラジカル産生に対して防護効果を示すことは、通常の生体で生じていると考えられるラジカル産生に対して防護効果があることを示唆している。以上のことは、FSS および PSS が、抗高脂血症作用に加えて抗酸化作用も有しており、そのことによって動脈硬化の進行を緩和する効果が期待できることを示唆するものである。