

主 論 文

Study on anti-oxidative and anti-inflammatory effects of radon inhalation on mouse models of oxidative stress-related disease

(ラドン吸入が酸化ストレス関連疾患モデルマウスに及ぼす抗酸化・抗炎症作用に関する研究)

【諸言】

三朝(鳥取県)やバドガシュタイン(オーストリア)は、放射性希ガスであるラドン(^{222}Rn)を利用した療法が実施されていることで世界的に有名である。このラドン療法は特に過剰な活性酸素種(ROS: reactive oxygen species)に由来する疾患がその適応症とされているが、その効果と機構については十分な解明がされていない。このため我々はラドン療法を模擬できる小動物用ラドン曝露装置を開発するなどし、当該療法の機構解明や新規適応症・効果的利用方法の検討などを目的とした研究をしてきた。本研究ではこれらの一環として、酸化ストレス関連疾患であるストレプトゾトシン誘導1型糖尿病のモデルマウスと、デキストラン硫酸ナトリウム誘導大腸炎のモデルマウスを対象に、ラドン吸入がこれらに及ぼす症状抑制の作用に関して検討した。

第1編 Suppression of streptozotocin-induced type-1 diabetes in mice by radon inhalation

(ラドン吸入によるストレプトゾトシン誘導マウス1型糖尿病の抑制)

【目的】

血糖値を正常に保つには膵臓ランゲルハンス島(膵島)の β 細胞から分泌されるインスリンというホルモンが必要である。1型糖尿病はこの β 細胞が免疫細胞からの攻撃により破壊され、インスリンの産生・分泌に障害が生じ、その結果として発症する。1型糖尿病の詳細な発症機序は明らかではないが、その一つとして、ROSによる膵島 β 細胞への酸化ストレスの関与が指摘されている。膵臓 β 細胞は抗酸化酵素・物質量が少なく、ROSによる酸化ストレスに曝され易い。したがって膵臓内の抗酸化機能を高めておくことは1型糖尿病の発症予防の観点から重要である。一方、我々はラドン吸入によりマウス膵臓中の抗酸化機能が亢進することを明らかにしている。このため本研究では、ラドン吸入がROSに由来するマウス1型糖尿病の発症に及ぼす効果に関して検討した。

【方法】

C57BL/6Jマウス(雄, 9週齢)にラドン($1, 2.5, 5.5 \text{ kBq/m}^3$)を24時間吸入させた。また、対照比較のための疑似的処置としてバックグラウンドレベルのラドンを吸入させた(Sham吸入)。吸入終了直後に 200 mg/kg のストレプトゾトシン(STZ: streptozotocin)を腹腔内投与し、その後の血糖値と体重の変化を観察した。投与4日後に膵臓中のスーパーオキシドディスムターゼ(SOD: superoxide dismutase)活性、カタラーゼ(CAT: catalase)活性、総グルタチオン(tGSH: total glutathione)量、過酸化脂質(LPO: lipid peroxide)量、および血清

中のインスリン量をそれぞれ吸光光度法により分析した。また、ヘマトキシリン・エオジン (HE: hematoxylin-eosin) 染色による膵臓の病理観察も行った。Tukey's test による多重比較検定を行い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意と判定した。

【結果】

STZ 投与に伴い、1) 血糖値は漸増し、インスリン値は減少した。2) 抗酸化機能について、SOD 活性と tGSH 量は減少し、LPO 量は増加した。3) 病理観察について、膵島の委縮が見られた。これら 1 型糖尿病の症状が、1 または 5.5 kBq/m^3 のラドン吸入により、いずれも (インスリン値は 1 kBq/m^3 吸入のみ) 有意に抑制された。

【考察】

ラドン吸入によりその後の STZ 投与に伴う血糖値増加が緩やかに抑制されたのは、膵臓中の抗酸化機能の亢進に伴い膵島萎縮、すなわち β 細胞死滅が抑制したためと考えられた。1 型糖尿病を自然発症するマウスに対し低線量 γ 線を照射した実験でも同様に、膵臓中の抗酸化機能亢進により β 細胞アポトーシスが抑制し、1 型糖尿病発症率が低下することが報告されている。これらの所見から、ラドン吸入による膵島保護効果が示唆できた。

第 2 編 Suppression of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice by radon inhalation

(ラドン吸入によるデキストラン硫酸ナトリウム誘導マウス大腸炎の抑制)

【目的】

潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患の病態には、過度の酸化ストレスや抗酸化機能の破綻が関与している。何らかの原因で活性化された好中球が大腸粘膜へと浸潤し、放出された ROS によって大腸粘膜が損傷される。その一方、我々はラドン吸入によりマウス諸臓器中の抗酸化機能が亢進することを報告しており、近年それによる抗炎症作用の機構も明らかになりつつある。このため本研究では、ラドン療法の新規適応症の探索の一環として、ラドン吸入がマウス大腸炎に及ぼす効果に関して検討した。

【方法】

BALB/c マウス (雄, 7 週齢) に、 2 kBq/m^3 のラドン吸入または Sham 吸入を 8 日間連続実施した。吸入 2 日目から 3% デキストラン硫酸ナトリウム (DSS: dextran sulfate sodium) を 7 日間摂取させることにより大腸炎モデルを作成し、腸炎の程度を活性指数 (DAI: disease activity index) により経時的に観察した。モデル作成後、炎症の指標として大腸組織中のミエロペルオキシダーゼ (MPO: myeloperoxidase) 活性と血清中の腫瘍壊死因子 (TNF: tumor necrosis factor) $-\alpha$ 量を、抗酸化機能の指標として大腸組織中の SOD 活性・CAT 活性・tGSH 量・LPO 量と血清中の一酸化窒素 (NO: nitric oxide) 量をそれぞれ吸光光度法により分析した。さらに腸管の長さを計測し、HE 染色とアルアン・ブルー染色による病理観察も行った。Tukey's test による多重比較検定を行い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意と判定した。

【結果】

DSS 摂取に伴い、1) DAI 値が漸増し、腸管が萎縮した。2) 炎症の指標について、TNF- α

量と MPO 活性が増加した。3)抗酸化機能について、SOD 活性と tGSH 量が減少し、LPO 量は増加した。4)病理観察について、大腸粘膜の損傷と杯細胞の減少が見られた。これら大腸炎の症状が、2 kBq/m³ のラドン吸入により、いずれも有意に抑制された。

【考察】

大腸炎における大腸粘膜の損傷機構は、過剰に活性化された好中球が大腸粘膜へ浸潤し、これら好中球から放出される ROS による大腸粘膜の損傷とされている。本研究では、ラドン吸入により大腸組織における抗酸化酵素活性・物質が増加し、酸化障害の指標である LPO 量の増加が抑制されたことから、大腸炎における酸化ストレスが抑制されたことが示唆できた。また、大腸炎は粘膜損傷により更に好中球の浸潤が促される悪循環も特徴とされている。本研究では好中球浸潤の指標とした大腸組織中 MPO 活性と炎症の指標とした TNF- α 量の増加抑制からラドン吸入による抗炎症作用が示唆されたが、好中球の浸潤（活性化）そのものがラドンにより直接的に抑制されたか否かは結論できない。しかし、ラドン吸入による抗酸化機能亢進を介した大腸粘膜保護効果が、好中球の更なる浸潤を抑制し、結果として炎症抑制に寄与した可能性が考えられた。

【結論（上記2編）】

本研究ではラドン療法の機構解明や新規適応症・効果的利用方法の検討の一環として、ラドン吸入による酸化ストレス疾患モデルマウスの症状抑制効果に関して生化学的・病理学的に検討した。その結果、STZ 誘導 1 型糖尿病と DSS 誘導大腸炎の両モデルマウスの症状抑制効果が確認できた。これら抑制効果の機構としては、ラドン吸入による抗酸化作用と、それを介した抗炎症作用が関与していると考えられた。