

氏名(本籍)	かね 金	こ 子	つよし 剛	(神奈川県)
学位の種類	博士(医学)			
学位記番号	博甲第4778号			
学位授与年月日	平成20年3月25日			
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	蛍光偏光解消法による消化管病変の捕捉			
主査	筑波大学教授	医学博士	大塚	藤男
副査	筑波大学准教授	医学博士	正田	純一
副査	筑波大学講師	博士(医学)	森	健作
副査	筑波大学講師	博士(理学)	三輪	佳宏

論文の内容の要旨

(目的)

光を用いた生体観察技術は低侵襲性と鋭敏さから消化器における内視鏡を始めとした医学領域で幅広く用いられている。蛍光偏光解消法は生体膜を構成するリン脂質を蛍光染色し、分子運動によって生じる偏光のずれを定量する生体膜流動性の測定技術である。この方法を消化器病変、特にNSAIDs起因性胃粘膜傷害やがん化様病変など、活性酸素と脂質過酸化が深く関与する病態に適用し、本法がこれら消化管病変捕捉に有用か否かを基礎的に検討した。

(対象と方法)

ラット胃粘膜培養系細胞(RGM-1)にインドメタシン(IND)添加して細胞傷害モデルを作成、その細胞膜流動性の変化を蛍光偏光解消法にて測定した。細胞毒性試験(LDH法)と蛍光観察法(DPPP蛍光法)を用いて同変化と細胞膜の脂質過酸化との関係についても比較検討した。また、RGM-1細胞にニトロソグアニジン(MNNG)を添加して得られた癌様変異株(RGK)とRGM-1細胞との細胞膜流動性の違いを蛍光偏光解消法にて測定・検討した。さらにアゾキシメタン誘発大腸腺腫モデルラットにおける病変部と正常粘膜が蛍光偏光解消法で鑑別可能か否かについても検討した。

(結果)

- ① IND起因性細胞傷害は濃度依存的、時間依存的に発生した。細胞膜の流動性の変化は細胞傷害に先行し、濃度依存的に発生した。蛍光偏光解消法はIND誘発の膜流動性変化を捕捉した。
- ② DPPP蛍光法で、IND刺激により脂質過酸化量が濃度依存的に増加し、膜流動性変化と同期して生じたことを確認した。INDが膜流動性変化の原因であることが示唆された。
- ③ 抗酸化剤であるビタミンEの前投与がIND刺激による膜流動性増加と脂質過酸化を抑制した。また水溶性ラジカル開始剤の投与により、膜流動性変化が濃度依存的に亢進、脂質過酸化も濃度依存的に増加した。IND起因性膜流動性変化は脂質過酸化が原因と考えた。
- ④ RGM-1細胞の癌様変異株化に伴う膜流動性の変化は、蛍光偏光解消により検出可能であった。
- ⑤ アゾキシメタン誘発大腸腺腫モデルにおける正常粘膜と腫瘍部は蛍光偏光解消法にて差別化イメージング

ができ、蛍光偏光解消度も統計学的有意差をもって区別可能であった。

(考察)

本研究はRGM-1細胞を用い、IND起因性脂質過酸化による細胞膜の経時的流動性変化を蛍光偏光解消法により光学的に捕らえている。またRGM-1細胞の癌様変異株化に伴う膜流動性の変化も検出できた。さらにはアゾキシメタン誘発大腸腺腫モデルにおける正常粘膜と腫瘍部との相違を蛍光偏光解消法にてイメージング化でき、蛍光偏光解消度の数値の面からも明らかにした。蛍光偏光解消法により生細胞膜傷害を、特に侵襲なく、測定することが可能であった。既存の内視鏡機器に簡単なフィルターを装着することで消化管の粘膜傷害の診断・定量化の補助技術として使える可能性を指摘した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究はラット胃粘膜培養系細胞（RGM-1細胞）を用い、IND起因性脂質過酸化による細胞膜の経時的流動性変化を、同細胞の癌様変異株化に伴う膜流動性の変化を蛍光偏光解消法により光学的に捕らえ、さらにはアゾキシメタン誘発大腸腺腫モデルにおける正常粘膜と腫瘍部との相違を蛍光偏光解消法にてイメージング化して区別できることを示している。この蛍光偏光解消法は感度が高く、しかも蛍光色素や励起光照射が細胞を傷害しないため臨床応用の可能性が高いと言う。しかしながら、他の癌腫、あるいは前癌病変、さらには炎症性疾患など通常遭遇する各種消化管病変における蛍光偏光解消法の所見を検討する必要性が残されており、臨床的有用性、臨床応用の可能性は今後の研究に待つところが多い。本研究は、蛍光偏光解消法が一定の消化器病変を実験的に検出するのに有用であることを初めて示し、今後の応用の可能性を示した点で意義あるものと言える。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。