

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 神谷 真菜  
学位 博士(歯学)  
学位記番号 新大院博(歯)第324号  
学位授与の日付 平成27年3月23日  
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
博士論文名 X線局所照射による唾液腺傷害とT細胞の関与：マウスによる実験的検証

論文審査委員 主査 教授 佐伯 万騎男  
副査 教授 吉江 弘正  
副査 教授 朔 敬

### 博士論文の要旨

今回提出された博士論文の要旨においては下記のとおりである。

#### 【背景と目的】

頭頸部癌のX線治療が唾液腺の萎縮を引き起こし、唾液分泌の低下による口腔乾燥症を生ずることは臨床的によく知られている。このようなX線照射による唾液腺障害は過剰な炎症反応によるというのが一般的な認識であるが、実験的に検証した文献は少ない。本研究では、T細胞活性の異なる3系統のマウス(C57BL/6, ICR-nu/nu, ICR)を用いて、炎症と唾液腺障害の因果関係を実験的に検証した。

#### 【材料と方法】

治療用X線発生装置を用いて、3系統のマウスの顎下腺に対して局所的に25 Gyを一括照射した。唾液腺の機能的評価は、ピロカルピン刺激による唾液分泌量の測定によって行った。また、顎下腺の器質的変化については、Hematoxylin-Eosin染色とMasson's trichrome染色による病理組織学的評価に加えて、T細胞マーカーであるCD3とアポトーシス・マーカーであるcleaved PARPの免疫組織学的評価を行った。

#### 【結果】

C57BL/6マウスの顎下腺では、照射後4日目に炎症性細胞浸潤を伴う顕著な急性炎症反応を呈し、照射後2週目という早期から、器質的破壊と唾液分泌の有意な低下が認められた。ICRマウスでは、C57BL/6マウスと同様に唾液分泌機能の低下が認められたが、炎症性細胞の浸潤や組織破壊はC57BL/6マウスと比べて明らかに軽度であった。対照的に、ICR-nu/nuマウスでは、観察期間を通して炎症と器質的破壊は軽度であったが、照射後8週目以降で唾液分泌の有意な低下が認められた。

#### 【考察・結論】

我々が得た実験結果は、X線照射による唾液腺障害の発症時期を区分した臨床所見と基本的に一致しており、2つの作用機序があることを示唆している。すなわち、ひとつは一般的に認識されているような急性炎症を介する間接作用であり、即発性の機能障害を引き起こすことを特徴とする。また、これは唾液腺組織の破壊と線維化に大きく関与しており、臨床的にみられる放射線治療による口腔乾燥症の主たる要因と考えられる。しかし、一方では、唾液腺細胞に対する直接作用もあり、遅発性の機能障害を発症することを特徴とする。これは唾液腺組織の幹細胞を強く傷

害している可能性があることから、再生治療方法を選択する際に看過してはならない傷害といえる。

#### 審査結果の要旨

頭頸部腫瘍に対する X 線治療は唾液腺の萎縮を引き起こし、唾液の分泌機能を阻害するため、患者が口腔乾燥症に苦しむ症例は数多く報告されている。唾液腺は高度に分化した増殖活性の低い細胞で構成されているため、一般的には放射線感受性の低い臓器に分類されてしかるべきであるが、実際には長期にわたり重度の唾液腺障害を引き起こすことから X 線感受性の高い臓器に分類する報告は多い。詳細な病理組織学的検討によると、X 線照射が炎症性細胞浸潤を伴った急性炎症を惹起し、炎症の慢性化とともに唾液腺は線維化し萎縮することから、X 線照射による唾液腺障害は急性炎症による器質的傷害によって間接的に惹起されるという考え方が広く受け入れられているが、実際に炎症と唾液腺障害の因果関係を実験的に検証した文献は少ない。本研究から得られた結果は、X 線照射による唾液腺への直接的な作用の有無と、炎症を介した間接作用の関与の程度を見極めると共に、唾液腺再生のための効果的な治療戦略を立案するためにも重要な意義があると思われる。

本研究では、免疫応答において細胞性免疫に関与する T 細胞に注目し、T 細胞活性の異なる 3 系統のマウス (C57BL/6, ICR, ICR-nu/nu) を用意し、顎下腺に対して X 線 25 Gy を一括照射した後の傷害程度を経時的に観察している。C57BL/6 マウスでは、ヘルパー T 細胞のひとつである Th1 細胞が優位に働いているという特徴が知られているのに対して、ICR-nu/nu マウスでは胸腺が遺伝的に欠損しているため T 細胞が存在しないという特徴がある。結果、C57BL/6 マウスの顎下腺では、照射後 4 日目において CD3 陽性のリンパ球浸潤を伴った顕著な急性炎症反応を呈し、アポトーシス・マーカー陽性細胞の出現も多数認めた。また、照射後 2 週目という早期から器質的破壊と唾液分泌の有意な低下が認められ、照射後 16 週目では著しい腺房の萎縮と間質における線維化を認めた。対照的に、ICR-nu/nu マウスでは、観察期間を通して炎症と器質的破壊は極めて軽度であり、唾液腺の萎縮および線維化は認められなかった。しかし、アポトーシス・マーカー陽性細胞は早期から検出され唾液分泌の有意な低下も認められたことから、炎症を介さない直接的な X 線傷害があることが示唆された。

本研究から得られた結果は、X 線照射による唾液腺障害の発症時期を区分した臨床所見 (Konings *et al.* 2005) と基本的に一致しており、X 線照射による唾液腺障害には 2 つの作用機序があることが示唆された。ひとつは、一般的に認識されているような急性炎症を介する間接作用であり即発性であることを特徴とし、この T 細胞に依存した生体反応は、唾液腺組織の破壊と線維化に大きく関与しており、臨床的にみられる放射線性口腔乾燥症の主たる原因と考えられた。このような症状に対しては、T 細胞の活性制御による炎症とそれに続く線維化の抑制が重要であると考えられた。その一方で、炎症を介さない唾液腺細胞に対する直接作用もあり、遅発性の唾液腺機能障害を発症することを特徴とすることが明らかとなった。これは組織の再生を担う唾液腺の幹細胞の傷害によるものと考えられ、このような症状に対しては、間葉系幹細胞の移植、あるいは骨髄からの誘導が効果的であると考えられた。しかし実際の臨床においては、即発性と遅発性の効果が複合化した状態で口腔乾燥症として発症することから、X 線治療時の抗炎症対策と炎症抑制後の間葉系幹細胞の局所動員や補充を軸とした基本戦略を提案しており、将来的な唾液腺再生治療への貢献が期待できる。

最終結論として、経時的な唾液腺組織の観察および唾液分泌機能の測定から、炎症反応と唾液腺障害には因果関係を示したと同時に、X 線による直接的な細胞傷害も示した。併せて将来的な唾液腺再生の基本戦略も提案しており、本研究論文は学立論文として価値のあるものであることを認める。