

Irma Melyani Puspitasari 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨  
イルマ メルヤニ プスピタサリ

題目 Protective effects of sodium selenite supplementation against irradiation-induced damage in noncancerous human esophageal cells.  
(非がん食道細胞における放射線ダメージに対する亜セレン酸ナトリウム補充の保護効果)

Oncology Letters, 2015 (in press)

Irma Melyani Puspitasari, Chiho Yamazaki, Rizky Abdulah, Mirasari Putri,  
Satomi Kameo, Takashi Nakano, Hiroshi Koyama.

#### 論文の要旨及び判定理由

がん患者に対する放射線治療では、正常細胞に対する放射線ダメージの低減が大きな課題である。放射線保護剤の投与は正常細胞に対する放射線のダメージを防護するための重要なアプローチであり、セレンも放射線治療の臨床研究において試用されている。しかしながら、放射線治療におけるセレンの有効性およびそのメカニズムについては必ずしも十分明らかではない。本研究では、セレンの放射線保護剤としての有効性やメカニズムについてさらなるエビデンスを得る目的で、亜セレン酸ナトリウムの放射線照射前投与による非がんヒト食道上皮細胞 (CHEK-1) 保護作用について検討を行った。

予備実験として、セレン自体の細胞毒性について検討を行いCHEK-1細胞に対する亜セレン酸ナトリウムの50%阻害濃度(IC50)が3.6  $\mu$ Mであることを明らかにした。また、亜セレン酸ナトリウム投与量とCHEK-1細胞内におけるグルタチオンペルオキシダーゼ活性との量-反応関係を明らかにし、培養条件として亜セレン酸ナトリウム50 nMの添加で72時間培養することとした。放射線の照射量は2 Gyとした。

放射線単独照射群では、細胞生存率がコントロール群および非照射の亜セレン酸ナトリウム添加群に比べ有意に低下した。亜セレン酸ナトリウム添加後に照射した群では放射線単独照射群に比べ細胞生存率が有意に増加し、コントロール群および亜セレン酸ナトリウム添加群との間に有意差は見られなかった。細胞周期解析では、亜セレン酸ナトリウムの単独投与群では細胞周期への有意な影響は認められなかったが、亜セレン酸ナトリウム投与後に照射した群ではsub-G1期の細胞割合が単独照射群の5.9%から4.2%に有意に減少 ( $p<0.05$ ) し、G1期の細胞割合が有意ではないが58.8%から62.1%に増加した。

ウエスタンブロット解析によりアポトーシス関連タンパク質の発現を確認したところ、亜セレン酸ナトリウム投与群ではcleaved poly ADP ribose polymerase (cleaved-PARP)の発現は認められず、照射群ではcleaved-PARPの発現が確認されたが、亜セレン酸ナトリウム投与後照射群では照射群よりcleaved-PARPの発現が有意に抑制された。

本研究では、照射72時間前における50 nM亜セレン酸ナトリウムの投与は非がんヒト食道上皮細胞 (CHEK-1) における照射によるアポトーシス誘導を阻害し、照射によるダメージを防御しうる事が示され、亜セレン酸ナトリウムの放射線治療における有効性および保護剤としての作用のメカニズムの解明に向け重要な知見を明らかにしたものと認められ、博士 (医学) の学位に値するものと判定した。

(平成28年1月8日)

審査委員

主査	群馬大学教授（医学系研究科） 病態総合外科学分野担任	桑野 博行	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） 病態腫瘍薬理学分野担任	西山 正彦	印
副査	群馬大学教授（医学系研究科） 病理診断学分野担任	小山 徹也	印

参考論文

1. Updates on clinical studies of selenium supplementation in radiotherapy.  
Puspitasari IM, Abdulah R, Yamazaki C, Kameo S, Nakano T, Koyama H.  
Radiation Oncology. 2014 May 29;9:125.
2. Apoptosis induced in MCF-7 human breast cancer cells by 2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone isolated from *Eugenia aqua* Burm f. leaves.  
Subarnas A, Diantini A, Abdulah R, Zuhrotun A, Hadisaputri YE, Puspitasari IM, Yamazaki C, Kuwano H, Koyama H.  
Oncol Lett. 2015 May;9(5):2303-2306. Epub 2015 Feb 24.
3. Effects of sodium selenite supplementation on pre $\beta$ -high-density lipoprotein formation-related proteins in human primary hepatocytes.  
Putri M, Yamazaki C, Syamsunarno MR, Puspitasari IM, Abdulah R, Kameo S, Iso T, Kurabayashi M, Koyama H.  
International Journal of Food and Nutritional Sciences Vol. 3 (6):16-22, 2014. 2014.
4. Reduced serum selenium concentration in miscarriage incidence of Indonesian subjects.  
Abdulah R1, Noerjasin H, Septiani L, Mutakin, Defi IR, Suradji EW, Puspitasari IM, Barliana MI, Yamazaki C, Nakazawa M, Koyama H.  
Biol Trace Elem Res. 2013 Jul;154(1):1-6.