

## 審査の結果の要旨

氏名 端 邦樹

OH ラジカル、 $O_2^-$  (スーパーオキシド)、過酸化水素、一重項酸素などの化学種は活性酸素と呼ばれ、体内の代謝や外部からのストレスで生じ、生体内の DNA などの損傷などを引き起こし、がん、老化などにも深く関わると考えられている。体内には活性酸素を抑制する機構が備わっているが、過剰なストレスに対しては、抗酸化物質を経口摂取するのが有効で、サプリメントとして販売されている。抗酸化剤は 7000 種以上も存在するといわれ、植物などに含まれる新しい抗酸化剤の抽出やその作用の研究が進められている。活性酸素のうち、OH ラジカルやスーパーオキシドは放射線照射により生体内で生ずることから抗酸化剤は放射線防護剤としても期待されている。放射線治療における防護剤、増感剤の作用とも深く関わる抗酸化剤や放射線防護剤の作用機構については未だ未解明の部分が多く、現在も精力的に研究が進められている。

本研究は、脳梗塞時の治療薬として臨床で使用され、放射線防護作用が見いだされているエダラボンを対象に、各種水分解ラジカル、酸化ラジカルとの反応性を測定し、抗酸化作用の放射線化学的な実験を実施し、評価した。これをさらに展開して、抗酸化剤による初期の DNA 損傷の修復メカニズムを検討するために、プラスミド DNA を用い、電気泳動法と酵素処理を併用した新しい手法を提案し、抗酸化作用の知られたアスコルビン酸とエダラボンの抗酸化作用を検討しその有効性を示した。

論文は 5 章からなり、第 1 章では上に述べたような背景を紹介するとともに、本研究の目的をまとめている。

第 2 章はエダラボンと放射線分解活性種との反応を測定した結果を述べている。反応測定にはパルスラジオリシス法を用い、反応位置の確認のための量子化学計算を行った。エダラボンと OH ラジカルあるいは他の酸化性ラジカルとの反応では、異なった生成物が観測され、従来から提案されている電子移動の機構では説明できないことが判った。そこで、エダラボンの各種誘導体を用いた系統的な実験により、OH ラジカルはエダラボン分子内のフェニル基に付加反応すると結論した。さらに、量子化学計算からフェニル基のオルト位への付加が優先することを推定している。これにより、新たにエダラボンと OH の付加反応の反応経路が存在することを示した。

第 3 章は DNA の構成要素のモデルとして、通常最もラジカルが発生しやすいグアニンのモデルである dGMP (デオキシグアノシン三リン酸) を用いて、dGMP と OH の反応で生成するラジカルのアスコルビン酸とエダラボンによる還元反応をパルスラジオリシス法で測定した。反応性、濃度を調整し、パルス照射で生成する OH ラジカルの大部分が dGMP と反応するようにした上で少量加えたアスコルビン酸ないしはエダラボンの影響を測定した。dGMP の OH ラジカルとアスコルビン酸あるいはエダラボンとが反応して、各々の酸化したラジカルが生成することを確認した。アスコルビン酸でこの反応が生ずることは既に知られているところで、エダラボンにも同様の作用があることを初めて観測することに成功した。ただし、これが化学修復であることを示すには更なる実験が必要であるとしている。

第 4 章はモデル DNA (pUC18) を用いて抗酸化作用の評価の新しい実験手法の提案とそ

れを実際に適用した結果について述べている。DNA の損傷は一本鎖切断(SSB)、二本鎖切断(DSB)を電気泳動法で評価し、抗酸化剤の作用はSSB, DSB の抑制から評価されてきた。しかし、鎖切断以外にDNA の形状を保持したまま損傷が蓄積されている。この情報を引き出すには、損傷に特異に作用する酵素で処理してSSB を誘導し、顕在化させることによって、損傷量の評価に使用できる。これを抗酸化剤の存在下の照射試料に適用すれば、抗酸化剤に特有の修復作用を検出することが可能となる。このアイデアを適用し、ピリジミン塩基損傷、プリン塩基損傷、塩基脱離部に作用する、各々Nth、Npg、Nfo と呼ばれる塩基除去修復酵素を用いた実験を行い、DNA 水溶液にアスコルビン酸、エダラボンの添加系で提案した手法が有効であることを示した。この手法は、様々な抗酸化剤を対象とする実験に利用でき、この分野の研究の進展に役立つ成果であることを示している。

第5章は、結論の章で、本研究の成果をまとめるとともに、今後のこの分野の研究展望についてまとめている。

以上要すれば、放射線科学、特に放射線化学、放射線生物の観点からエダラボンの抗酸化作用の初期過程を明らかにするとともに、抗酸化剤の作用研究の新しい実験手法を提案し、実験でその有効性を示した。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。