

学位審査最終報告書

学位申請者氏名	橋口 誠子
博士の専攻分野の名称	博士（医療薬学）
学位授与の日付	2016 年 3 月 19 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	Titanium dioxide nanoparticles exacerbate pneumonia in respiratory syncytial virus (RSV)-infected mice (二酸化チタンナノ粒子は RS ウイルス感染マウスの肺炎 を悪化させる)
発表雑誌	Environmental Toxicology and Pharmacology 39 巻 879 ～ 886 頁 2015 年
学位審査委員	主査 松野 康二 副査 和田 光弘 副査 垣内 信子 副査 渡辺 渡（指導教員）

論文内容の要旨

1. 目的

環境化学物質として位置付けられているナノマテリアルである二酸化チタンナノ粒子 (TiO_2M) は、化粧品や建築材料など様々な場面で汎用されているが、ヒトの健康への影響は不明な点が多い。一方、respiratory syncytial virus (RSV) は乳幼児に風邪症状を引き起こすウイルスとして知られており、感染病態の重症度が宿主の免疫状態を反映するという特徴を持ったウイルスである。本研究は、 TiO_2M のリスク評価の一環として、RSV 感染マウスモデルを用いて、 TiO_2M 曝露による感染免疫系および RSV 肺炎病態への影響を明らかにすることを目的とした。

2. 方法

TiO_2M (rutile、平均径 35 nm) を懸濁・希釈後、BALB/c マウスに経鼻曝露し、曝露 5 日後に RSV を経鼻感染させた。感染 1、5 日後に肺胞洗浄液 (BALF)、BALF 中に含まれる細胞

(BALF-c) および肺を取得し、以下に示す 1) ～4) を実施した。

- 1) ELISA 法を用いた BALF 中のサイトカインとケモカイン量の定量。
- 2) 感染 5 日後に取得した BALF-c について、GolgiStop 及び活性化処置後、抗 IFN- γ および IL-4 抗体で染色し、フローサイトメトリー法による Th1、Th2 細胞の比率の測定。
- 3) プラーク法による肺組織中の感染価の測定。
- 4) HE 染色と抗 RSV 抗体を用いた免疫化学組織染色によるホルマリン固定肺組織標本の解析。
- 5) 感染 1 日後に取得した BALF-c を用い、TiO₂M 処理後の LPS 刺激に対する応答性（食系細胞への影響）について、MIP-1 α (CCL3) を指標にした測定。

3. 結果

- 1) TiO₂M 曝露マウスの BALF 中の RSV 肺炎マーカーである IFN- γ およびケモカイン CCL5 レベルは、非曝露群と比べて有意に上昇した。
- 2) フローサイトメトリー法で Th1、Th2 細胞の比率を測定したところ、TiO₂M 曝露による差は確認できなかった。
- 3) 肺組織中の感染価は TiO₂M 曝露により上昇していなかった。
- 4-1) TiO₂M 曝露 RSV 感染マウスの肺組織では、非曝露群と比較して、リンパ球浸潤による肺泡中隔の肥厚が顕著にみられた。なお、非感染マウスではこのような顕著な差異は認められなかった。
- 4-2) RSV 陽性細胞と TiO₂M 粒子の局在は近接していなかった。また、RSV 感染 TiO₂M 曝露マウスの肺では TiO₂M の炎症性細胞による貪食・凝集が見られた。
- 5) BALF-c の CCL3 産生能は TiO₂M 処置の有無に関わらず、ほとんど変化は見られなかった。

4. 結論・考察

RSV 感染マウスへの TiO₂M の曝露は、免疫機能に影響を与え、RSV 肺炎を増悪させることが明らかになった。一方、二酸化チタンナノ粒子曝露は、RS ウイルス増殖亢進や非特異的な免疫抑制を引き起こさず、今後、TiO₂M の RSV 感染初期への影響についての更なる検討が必要であると考えられた。

論文審査結果の要旨

1. 論文の内容評価

本論文は、RSV 感染マウスモデル及び免疫学的手法を用いて、二酸化チタンナノ粒子曝露による感染免疫系および RSV 肺炎病態への影響解明を目的としたもので、その目的及び研究手法は十分に妥当である。

二酸化チタンナノ粒子曝露が RS ウイルス肺炎マーカーである IFN- γ 、CCL5 の両者を上昇させ、サイトカイン産生の非特異的な活性化、質的变化をもたらすことを明らかにしている。また、二酸化チタンナノ粒子曝露は RS ウイルス感染特有な間質性肺炎の増悪化を引き起こすことも明らかにしている。一方、二酸化チタンナノ粒子曝露は RS ウイルス増殖亢進や非特異的な免疫抑制を引き起こさず、今後初期免疫応答への影響についての検討が必要であることを考察している。これらの結果・考察についても妥当である。

なお、論文の新規性・社会貢献性の審査に当たっては、本研究科学学位審査ルーブリック表を用いて評価し、合格点を得た。

また、本研究結果は、インパクトファクターを持つ国際英語学術雑誌に投稿、掲載されており、本研究科の定めた審査要件に適合した。

2. 口頭発表・質疑応答の評価

口頭発表においては、本研究内容を、明快かつ的確に発表した。発表スライドも非常に工夫され、わかりやすいものであった。結果の図表も、明快で、内容を容易に把握し得た。また、種々の質疑に対して的確な回答が得られ、研究内容を熟知していると判断した。

以上のプレゼン能力及び論理的思考能力に関しても本研究科学学位審査ルーブリック表を用いて評価し、合格点を得た。

3. 本審査結果

本研究の論文内容審査、および口頭発表・質疑応答の評価から、本研究および論文は、医療薬学領域研究に貢献するところが大きく、本学医療薬学研究科委員会における投票の結果、博士（医療薬学）の学位に値するものと判断した。