

学位論文要約
Extended Summary in Lieu of the Full Text of a Doctoral Thesis

氏 名： 西田 崇
Full Name Takashi Nishida

学位論文題目： Protective effects of fluoroquinolones on UV-induced damage of cultured ocular cell lines
Thesis Title

学位論文要約：
Summary of Thesis

フルオロキノロン系薬は広い抗菌スペクトルと強い抗菌力を有し今日の眼感染症の治療に欠かせない抗菌薬である。一方、フルオロキノロン系薬は網膜剥離や光毒性などの副作用を持つことが知られている。本研究では、フルオロキノロン系薬の光照射後の影響について培養細胞を用いて検討した。

【対象と方法】

培養細胞にはヒト角膜上皮細胞 (HCECs), 網膜神経節細胞株 (RGC-5), マウス視細胞 (661W), ヒト網膜色素上皮細胞 (ARPE-19), ddY マウスから作製したマウス網膜初代細胞およびヒト網膜色素上皮初代細胞 (hRPE) を用いた。フルオロキノロン系薬として levofloxacin (LVFX), ciprofloxacin (CPFX) および clinafloxacin を, vehicle として PBS を, 培地には DMEM/F12 培地を用いた。①96 well plate に HCECs, RGC-5, 661W, ARPE-19 をそれぞれ 1000 cells/well, 3000 cells/well, 3000 cells/well, 15000 cells/well で播種し, 24 時間後に培地交換と試薬添加を行い, その 1 時間後から紫外線照射を行い, その後核染色による死細胞率測定を行った。②ARPE-19 を 96 well plate に 15000 cells/well で播種し, 24 時間後に培地交換と試薬添加を行い, その 1 時間後から 5J の紫外線照射を行い, その後 Cell-Counting Kit-8 を用いた細胞生存性の評価, 活性酸素種 (ROS) 産生量の評価, JC-1 色素を用いたミトコンドリア膜電位の評価, caspase-3/7 活性の測定を行った。③マウス網膜初代細胞を ddY マウスから作製し, 24 時間後に培地交換と試薬添加を行い, 5J の紫外線照射を行い, その後 cleaved caspase3 を用い死細胞率評価を行った。④hRPE を 96 well plate に 2000 cells/well で播種し, 24 時間後に培地交換と試薬添加を行い, その 1 時間後から 5J の紫外線照射を行い, その後 Cell-Counting Kit-8 を用い細胞生存性の評価を行った。

【結果】

①死細胞率: HCECs, RGC-5, 661W, ARPE-19, 全ての群において LVFX (0.1 μ g/mL), CPFX (0.1 μ g/mL), および clinafloxacin (0.1 μ g/mL) 添加により細胞死の抑制を認めた。(全群において $p < 0.01$) ②細胞生存性: LVFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$), CPFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$), および clinafloxacin (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$) 添加により細胞生存性の増加を認めた。ROS: LVFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$) および CPFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$) 添加により ROS 産生量の低下を認めた。ミトコンドリア膜電位: UV 照射群では緑色/赤色の蛍光の割合が増加し, LVFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$), CPFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$), および clinafloxacin (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$) の添加によりそれが改善した。caspase-3/7 活性: LVFX (0.1 および 1 μ g/mL, $p < 0.01$, $p < 0.01$), CPFX (0.1 および 1 μ g/mL, $p < 0.01$, $p < 0.01$), および clinafloxacin (0.1 および 1 μ g/mL, $p < 0.01$, $p < 0.01$) で caspase-3/7 活性の減少を認めた。③LVFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.01$) 添加によりマウス網膜初代細胞における死細胞率の低下を認めた。④LVFX (0.1 μ g/mL, $p < 0.05$) 添加により hRPE の細胞生存性の増加を認めた。

【考察】

一般に高濃度のフルオロキノロン系薬では細胞障害性を示すが, 前房内あるいは硝子体内へ移行する程度の

低濃度では、低濃度フルオロキノロンは ROS の産生を抑制し酸化ストレスを低下させることで、アポトーシスを抑制することが考えられた。

【結論】

低濃度フルオロキノロン系抗菌薬添加において細胞保護作用が認められた。低濃度フルオロキノロン系薬は酸化ストレスを減少させ、細胞保護作用を有することが示唆された。

European Journal of Pharmacology 806(5): 59-66, 2017