

平成 21 年 3 月 31 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19590537
 研究課題名（和文） 癌化学療法剤による口腔粘膜炎の発症機序解明と治療薬開発の基礎的研究
 研究課題名（英文） Investigation of the basic mechanisms for chemotherapy induced-oral mucosal mucositis and exploration of medicine
 研究代表者
 末丸 克矢 (SUEMARU KATSUYA)
 愛媛大学・医学部附属病院・准教授
 研究者番号：50363239

研究成果の概要：

本研究では、ハムスターへの抗癌剤（5-FU）投与によって惹起させた口内炎モデルを使用し、口内炎治療薬の探索を目的とした基礎的研究を行った。口内炎の潰瘍面積と炎症を指標として検討した結果、ジンセノサイド Rb1 およびローヤルジェリーを含有した軟膏や口腔内フィルム剤が口内炎治療を促進することが明らかになった。従って、これらの物質を含有した口腔内外用薬が、癌化学療法の口内炎治療に対して有効な候補と考えられた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,100,000	630,000	2,730,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：境界医学・応用薬理学

キーワード：医薬品副作用，口内炎，抗癌剤，フィルム製剤

1. 研究開始当初の背景

現在、新たな抗癌剤や放射線療法が組み込まれた新規プロトコルの開発が進められているが、薬の副作用に対する治療法の開発は、病気本来の治療法の開発に比べて遅れているのが現状である。口腔粘膜炎（口内炎）は癌化学療法を受ける患者の約 30～40%、骨髄移植を受ける患者の 80%、頭部または頸部の放射線治療を受ける患者の殆どに発症する。癌治療を受けている患者に口内炎が発症した場合には、患者に多大な自覚的苦痛をもたらすだけでなく、疼痛による食事摂取量の

減少やコミュニケーション機能の低下が誘発され、患者の QOL を著しく低下させる因子となっている。しかし、現在、癌治療時の口内炎に対して有効な治療薬剤がなく、局所麻酔薬や鎮痛薬による対症療法が行なわれているのが現状であり、良質な癌療法を遂行するためには口内炎への副作用対策、すなわち口内炎の治療法の開発が必須となっている。

2. 研究の目的

抗癌剤のフルオロウラシル（5-FU）を投与したハムスターのチークポーチをブラシ

グすることによって口内炎が惹起される。我々は既に、本口内炎モデルを用いて臨床使用されている薬剤の評価を行った結果、一般的な口内炎に使用されている抗炎症薬のアズレン軟膏では治療効果が認められないことから、本モデルはアズレン治療抵抗性の口内炎動物モデルであることを確立している (Mitsuhashi et al, Eur J Pharmacol 2006)。また、一般的な口内炎に対して繁用されているステロイド含有軟膏の影響を調べた結果、著明な口内炎の増悪が認められ、免疫低下の状態におけるステロイド使用の注意が示唆されている。これらの結果は、本 5-FU 誘発口内炎動物モデルの妥当性を示唆するものである。本研究では、5-FU をhamsterに投与することによって惹起させた口内炎モデルを使用して、口内炎発症機序の解明と口内炎治療薬の開発の基礎的研究を行った。

3. 研究の方法

5-FU (60 mg/kg, ip) を2回 (Day0 および Day2) 投与した雄性シリアンhamsterにワイヤーブラシにより片側のチークポーチを2回ブラッシング (Day1 および Day2) することによって Day3 に発症する口内炎モデルを作成した。口内炎評価は潰瘍面積の計測 (図1)、炎症マーカーとして好中球が産生するミエロペルオキシダーゼ (MPO) 活性の定量ならびに HE 染色による病理組織的評価を行った。

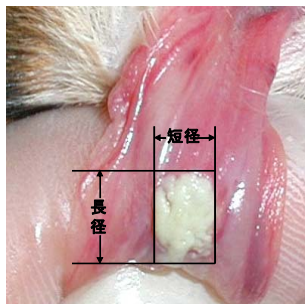


図1 口内炎面積の計測

口内炎治療薬の候補として、粘膜保護作用を有する蜂蜜、強力な活性酸素発生抑制作用を有するプロポリス、細胞成長促進作用を有するローヤルゼリーならびに血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) 促進作用を有するジンセノサイド Rb1 について検討した。実験では、これらの候補薬剤を口腔内外用薬として応用する目的で、軟膏剤または口腔内フィルム剤として調整した。各種軟膏およびフィルム剤は、約 20mg または 1 枚を 1 日 1 回、口腔内の口内炎発生箇所塗布または貼付した。なお、本研究は愛媛大学動物実験管理委員会の審査・承認を得て行った。

4. 研究成果

(1) ローヤルゼリー軟膏の効果

5-FU を投与したhamsterのチークポーチをブラッシングすることにより、その翌日に口内炎が発現した。蜂蜜軟膏 (1-100%) およびプロポリス軟膏 (0.3-3%) では影響はみられなかったが (図2)、ローヤルゼリー軟膏 (3-30%) の連日塗布は治癒促進効果を示し、口内炎総面積 (AUC) の用量依存的な縮小を示した (図3) (Suemaru et al, Methods Find Exp Clin Pharmacol, 2008)。

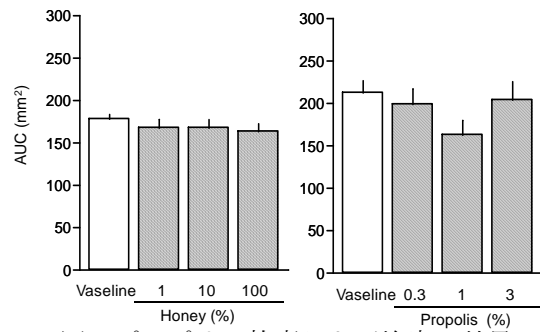


図2 プロポリス軟膏および蜂蜜の効果

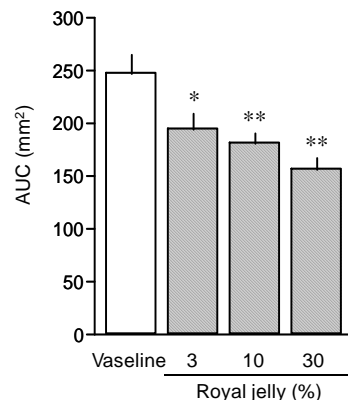


図3 ローヤルゼリー軟膏の効果

(2) ローヤルゼリー貼付剤の効果

次にアルギン酸ナトリウムおよびキトサンを用いた口腔内フィルムにローヤルゼリーを含有させた貼付剤を作成した。ローヤルゼリー含有フィルム剤 (3-30%) も、軟膏と同様に口内炎治癒促進作用を示した。

(3) ジンセノサイド Rb1 軟膏の効果

ジンセノサイド Rb1 (10-11, 10-9, 10-6 g/g) 軟膏の効果について検討した。その結果、10-9 g/g で有意な改善効果がみられたが、濃度依存的な効果は認められなかった。

(4) ジンセノサイド Rb1 貼付剤の効果

次にアルギン酸ナトリウムおよびキトサンを用いた口腔内フィルムにジンセノサイド Rb1 を含有させた貼付剤を作成した。改変したパドル法により放出挙動を検討した結果、フィルム製剤からの安定したジンセノサイド Rb1 の放出が認められた (図4)。

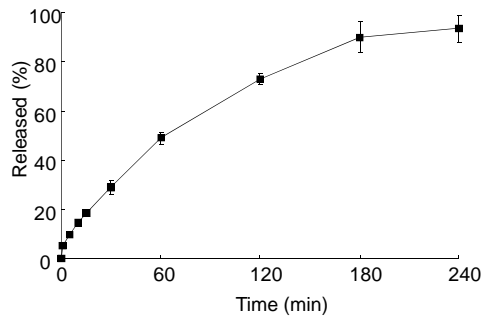


図 4 フィルム製剤からのジンセノサイド Rb1 の放出挙動

ジンセノサイド Rb1 (10^{-12} , 10^{-9} , 10^{-6} g/g) を含有させフィルム剤を連日口内炎発生箇所へ貼付した結果、用量依存的な治癒促進効果がみられた (図 5)。また、口内炎総面積 (AUC) の用量依存的な縮小が認められた (図 6)。

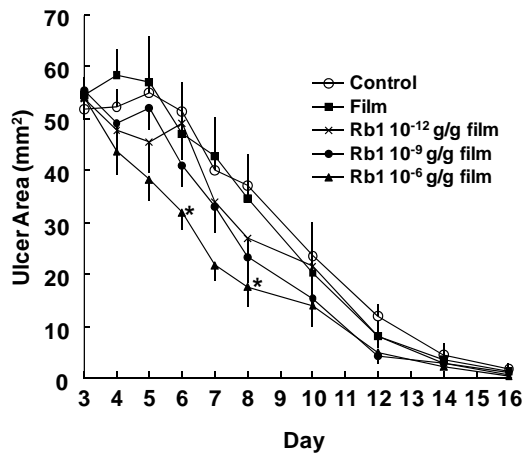


図 5 ジンセノサイド Rb1 (10^{-12} ~ 10^{-6} g/g) 貼付剤による口内炎面積の経日的変化

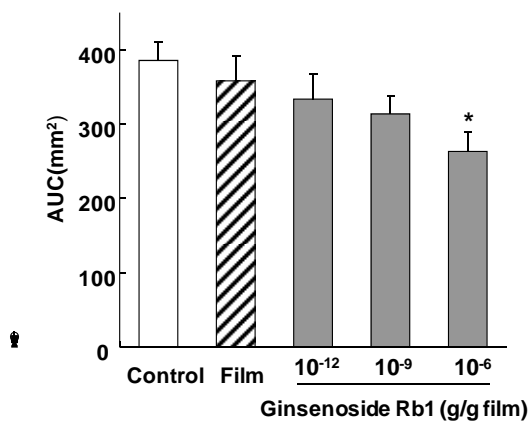


図 6 ジンセノサイド Rb1 (10^{-12} ~ 10^{-6} g/g) 貼付剤の口内炎に対する効果

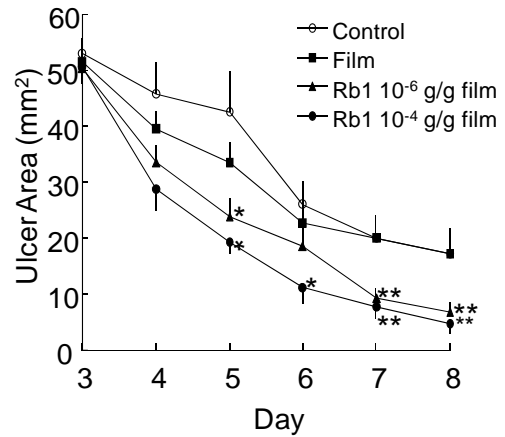


図 7 ジンセノサイド Rb1 (10^{-6} , 10^{-4} g/g) 貼付剤による口内炎面積の経日的変化

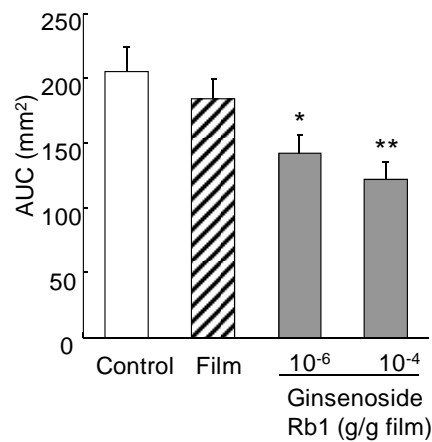


図 8 ジンセノサイド Rb1 (10^{-6} , 10^{-4} g/g) 貼付剤の口内炎に対する効果

次に、さらに高濃度ジンセノサイド Rb1 (10^{-4} , 10^{-6} g/g) を含有させフィルム剤の効果を検討した結果、用量依存的な治癒促進効果の増強がみられた (図 7 および 8)。そこで、day 8 におけるチークポーチ内の MP0 活性の測定と HE 染色による組織学的検討を行った。

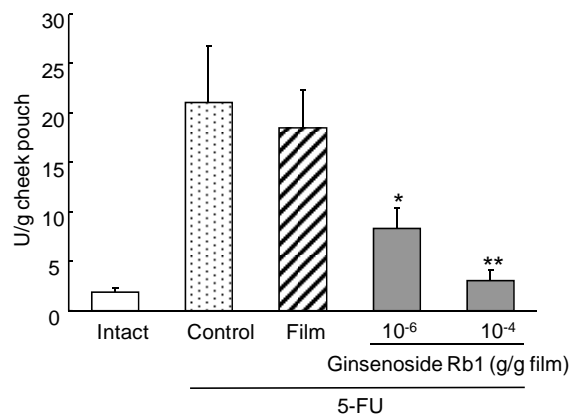


図 9 MP0 活性を指標にしたジンセノサイド Rb1 貼付剤の口内炎治癒促進効果

Day8にチークポーチ内のMPO活性の測定を行った結果、5-Fu投与により口内炎が発症しているcontrol群では著明なMPO活性の上昇がみられたが、ジンセノサイドRb1 (10^{-12} ~ 10^{-6} g/g) 貼付群では濃度依存的な抑制が認められた(図9)。

さらに、HE染色による組織学的検討を行った結果、5-Fu投与により口内炎が発症しているcontrol群で著明な好中球の浸潤がみられたが、ジンセノサイドRb1 (10^{-12} ~ 10^{-6} g/g) 貼付群では好中球浸潤の低下とともに、潰瘍部位における細胞再生が観察された(図10)。

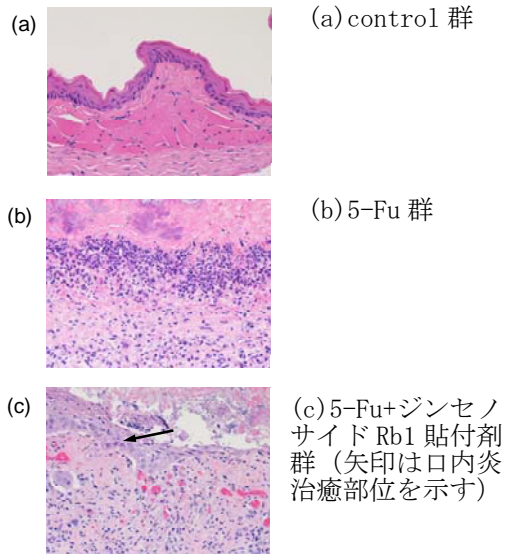


図10 口内炎に対するジンセノサイドRb1 貼付剤の効果 (HE染色による組織学的検討)

以上の結果より、ジンセノサイドRb1 およびローヤルゼリーが5-Fu誘発口内炎に対して治療促進効果を示すこと、ならびにその作用は口腔内フィルム剤として応用することで効果が安定または上昇する可能性が示唆された。従って、ジンセノサイドRb1 およびローヤルゼリーを含有した口腔内外用薬が、癌化学療法の内炎治療に対して有効な候補と考えられた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Suemaru K, Cui R, Li B, Watanabe S, Okihara K, Hashimoto K, Yamada H, Araki H. Topical Application of Royal Jelly has a Healing Effect for 5-fluorouracil-induced Experimental Oral Mucositis in Hamsters. Methods and findings in experimental and

clinical pharmacology 30:103-106 (2008)、査読有り

[学会発表] (計 3 件)

- ① 渡邊真一, 末丸克矢, 山口巧, 池川嘉郎, 阪中雅広, 荒木博陽. ginsenoside Rb1 含有口腔内フィルムの5-FU誘発口内炎モデルに対する有効性. 第113回日本薬理学会近畿部会 2008年6月20日(岡山)
- ② 渡邊真一, 末丸克矢, 山口巧, 崔然吉, 阪中雅弘, 荒木博陽. ハムスターにおける5-FU誘発口内炎に対するginsenoside Rb1含有フィルムの治療効果. 日本薬学会第128年会 2008年3月28日(横浜)
- ③ 渡邊真一, 末丸克矢, 崔然吉, 李炳錦, 沖原清司, 橋本健, 山田英生, 荒木博陽. ハムスターにおける5-FU誘発口内炎に対するプロポリスおよびローヤルゼリー軟膏の効果. 第9回応用薬理シンポジウム 2007年9月10日(東京)

[産業財産権]

○取得状況 (計 1 件)

名称: 口内炎処置用組成物

発明者: 荒木博陽, 末丸克矢, 沖原清司

権利者: 国立大学法人愛媛大学, 株式会社山田養蜂場本社

種類: 公開特許公報 (A)

番号: 特許公開2008-208088

取得年月日: 平成20年9月11日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

末丸 克矢 (SUEMARU KATSUYA)

愛媛大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 50363239

(2) 研究分担者

荒木 博陽 (ARAKI HIROAKI)

愛媛大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 50294450