

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K07644

研究課題名(和文)放射線防護剤バナデートの新規放射線防護作用と放射線治療用腸管保護剤としての応用

研究課題名(英文)A novel radioprotective mechanism of sodium orthovanadate and its application to radiotherapy

研究代表者

西山 祐一(NISHIYAMA, Yuichi)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・助教

研究者番号：80730598

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：バナデートの放射線骨髄障害に対するp53非依存的防護効果の機序を探るため、全身照射を行ったTrp53ノックアウトマウスの骨髄および腎における遺伝子発現の網羅的な解析を行った。バナデート投与は照射後の炎症関連遺伝子の発現上昇を抑制する傾向にあり、これが全身照射に対するp53非依存的防護効果に寄与している可能性が示唆された。また、血管内皮損傷が原因とされる腹部照射後のマウス遅発性腸死をバナデートは効果的に抑制できたことから、バナデートは血管内皮損傷に対する防護効果を有すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

放射線骨髄障害に対するバナデートのp53非依存的な新規放射線防護効果として、炎症反応の制御が関与しているものと考えられた。これは、新たな放射線感受性修飾因子の発見につながるるとともに、新規放射線防護剤の開発にも寄与するものとする。

他方、バナデートは分割照射後の遅発性腸死を効果的に防ぐことが明らかとなり、骨盤部放射線治療で生じる直腸炎などの晩期障害を防ぐ有望な防護剤としての可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：To investigate the mechanism of the p53-independent protective effect of vanadate against radiation-induced bone marrow injury, we performed a comprehensive analysis of gene expression in the bone marrow and kidney of Trp53 knockout mice after total-body irradiation. Vanadate tended to suppress the upregulation of inflammation-related gene expression, which may be associated with the p53-independent protective effect of vanadate against the bone marrow injury. Moreover, vanadate effectively suppressed delayed intestinal death in mice after fractionated caudal half-body irradiation, which is thought to be caused by vascular endothelial damage, suggesting that vanadate has a protective effect against vascular endothelial damage.

研究分野：放射線生物学

キーワード：バナデート p53 血管内皮 遅発性腸管障害 炎症

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

腸管は放射線高感受性であり、放射線防護における重要な防護対象組織である。放射線腸管障害は腸上皮損傷に関連した急性障害、および腸上皮内血管損傷に関連した遅発性障害にわけられ、いずれも放射線初期応答因子である p53 が障害抑制因子となっている(Kirsch DG *et al.*, *Science* 327, 593-596, 2010, Lee GL *et al.*, *Radiat. Res.* 192, 258-266, 2019)。研究代表者の所属研究室では先行研究において、p53 制御作用を有し、急性放射線症候群に効果的な防護剤である p53 制御剤を見出していた。例えば、5-クロロ-8-キノリノール(5CHQ)は p53 標的遺伝子のうち、細胞死抑制性因子である p21 の発現を亢進させ、細胞死促進性因子である PUMA の発現を抑制し、24 Gy 腹部単回照射後のマウス腸死を防ぐ(Morita A *et al.*, *Mol. Cancer Ther.* 17, 432-442, 2018)。オルトバナジン酸ナトリウム(バナデート)は強力な p53 阻害作用を有し、骨髄死相当量の 8 Gy 全身照射後でもマウスを 100%生存させることが可能である(Morita *et al.*, *Cancer Res.*, 70, 257-265, 2010)。

近年、研究代表者は、バナデートは腹部単回照射後の急性腸管障害は抑制できないことを明らかにし、p53 が急性腸管障害に対する抵抗性因子であることを支持する成果を得ていた(Nishiyama Y *et al.*, *Int. J. Radiat. Biol.*, 97, 1241-1251, 2021)。しかしその後、興味深いことにバナデートは腹部分割照射後の遅発性障害に対しては高い防護効果を発揮し、また、全身照射に対しては p53 非依存的な防護効果を示すなどの新たな知見を得た。これらは、バナデートが p53 に依存しない未知の放射線防護作用を秘めていることを示唆するものであった。

### 2. 研究の目的

上記背景から本研究では、バナデートが有する未知の放射線防護効果の解明に取り組んだ。すなわち、腹部分割照射後の遅発性腸管障害および全身照射後の骨髄障害に対する、バナデートの p53 依存的および非依存的防護作用機序を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) バナデートが有する p53 非依存的放射線防護活性

溶媒またはバナデートを投与した *Trp53*-KO、-hetero マウス(ICR 系統)へ X 線全身照射 (total-body irradiation, TBI) を行い、5 時間後に大腿骨骨髄、腎臓より RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いた mRNA-seq により、細胞死制御に関する遺伝子の発現を網羅的に調べた。また、2 倍以上の発現変動を示した遺伝子をもとに、KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>) を用いたパスウェイ解析を行った。

#### (2) 遅発性腸管障害を誘導可能な照射系の構築

血管障害に関連した遅発性腸管障害は腹部照射約 1 ヶ月後に生じるとされる。そこで、この遅発性障害において、バナデートは腸上皮内血管あるいは腸上皮そのもののいずれを直接的に保護するのか検討を行った。まずは、遅発性腸管障害を再現良く高頻度に誘導可能な照射系の構築に取り組んだ。すなわち、深麻酔下の雄性野生型 C3H マウス(日本 SLC)の頭側半身を鉛で遮蔽し、尾側半身への X 線分割照射 (caudal half-body irradiation, CHBI) を 4 日連続で行った。また、照射領域には主要臓器として腎臓が含まれている場合、腎臓の障害が照射後の生存率に影響することが懸念された。そこで、照射後に経時的に随時尿を採取し、尿タンパク/クレアチニン比を測定することで腎障害の併発の有無を調べた。

構築した照射系において誘導される遅発性腸管障害に対するバナデートの防護効果を検討した。p53 制御剤の効果は一過性であることから、照射毎にバナデートを事前投与した。また、照射開始から 30 日後に FITC-dextran を経口投与し、血中への移行量を解析することで腸粘膜バリア機能を評価した。

### 4. 研究成果

#### (1) mRNA-seq による遺伝子発現の網羅的解析

TBI 後の *Trp53*-KO マウス骨髄において大きく発現が変動する遺伝子を網羅的に調べることで、バナデートが骨髄障害に対して p53 非依存的な防護効果を発揮する作用機構を探った。KEGG によるパスウェイ解析の結果、バナデートはサイトカインのシグナル伝達に参与する遺伝子の発現に大きく影響を与えていることがわかった。また、バナデート投与により、照射後の腎組織における炎症関連遺伝子、特に好中球・マクロファージの遊走を誘導する複数のケモカイン遺伝子の発現上昇が抑制されることもわかった。腎は血管に富むことから、バナデートは抗炎症作用を介した血管保護効果を有し、これが全身照射に対する p53 非依存的防護効果に寄与している可能性が考えられた。

(2) バナデートの遅発性腸死に対する防護効果

構築した照射系により 6 Gy/回で分割照射された一部のマウスは、先行研究と同様におよそ照射開始 30 日後より下痢や体重減少を伴い死亡した (図 1)。また、照射 30 日後までに尿タンパク/クレアチニン比に有意な変化は認められなかったことから、照射による致命的な腎障害を伴うことなく遅発性腸管障害が誘導されたと考えられた。

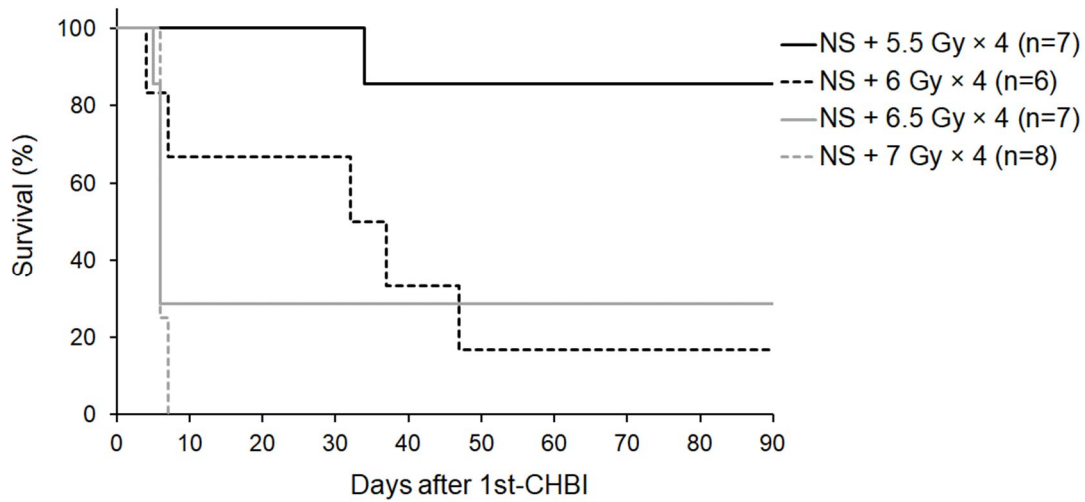


図 1 尾側半身照射による遅発性腸死の誘導

生理食塩水 (normal saline, NS) 投与から 30 分後に深麻酔下で尾側半身照射 (CHBI) した。6 Gy/回、4 日連続の CHBI により、最も高率に遅発性腸死が誘導された。

また、遅発性腸管障害に対するバナデートの防護効果を検討した結果、バナデートは遅発性腸死の発生を有意に抑制できた (図 2A)。照射 30 日後の腸粘膜バリア機能を調べたところ、経口投与された FITC-dextran の血中への移行量に有意な変化は認められなかった (図 2B)。これらのことから、バナデートは腸上皮を保護することで遅発性腸死に対する防護効果を発揮しているわけでないと考えられた。現在、腸における血管透過性の違いを調べることで、バナデートの腸血管内皮保護効果について検討を進めている。

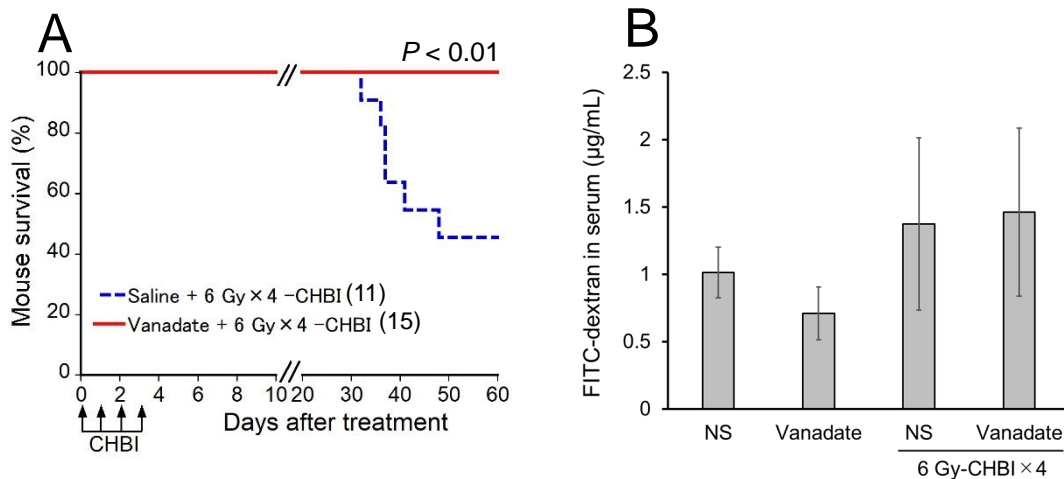


図 2 バナデートの遅発性腸死に対する防護効果

A: バナデート (15 mg/kg) または溶媒である生理食塩水 (normal saline, NS) 投与から 30 分後に、深麻酔下で 6 Gy の尾側半身照射 (CHBI) を 4 日連続で行った。バナデート投与マウスは遅発性腸死に対して有意な防護効果を発揮した。

B: 1 回目の CHBI から 30 日後に FITC-dextran を経口投与し、その 4 時間後に血清中の FITC-dextran を定量した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 森田 明典、西山 祐一、坂井 卓磨、東 優一	4. 巻 58
2. 論文標題 急性放射線腸管障害の分子機構とその制御	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 放射線生物研究	6. 最初と最後の頁 93-109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akinori Morita, Yuichi Nishiyama, Takuma Sakai, Yuichi Higashi	4. 巻 13
2. 論文標題 Molecular Mechanisms of Acute Radiation Intestinal Injury and Its Control	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Radiation Environment and Medicine	6. 最初と最後の頁 10-18
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.51083/radiatenvironmed.13.1_10	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishiyama Yuichi, Morita Akinori, Wang Bing, Sakai Takuma, Ramadhani Dwi, Satoh Hidetoshi, Tanaka Kaoru, Sasatani Megumi, Ochi Shintaro, Tominaga Masahide, Ikushima Hitoshi, Ueno Junji, Neno Mitsuru, Aoki Shin	4. 巻 97
2. 論文標題 Evaluation of sodium orthovanadate as a radioprotective agent under total-body irradiation and partial-body irradiation conditions in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Radiation Biology	6. 最初と最後の頁 1241 ~ 1251
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/09553002.2021.1941377	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishiyama Yuichi, Morita Akinori, Tatsuta Shogo, Kanamaru Misaki, Sakaue Masahiro, Ueda Kenta, Shono Manami, Fujita Rie, Wang Bing, Hosoi Yoshio, Aoki Shin, Sugai Takeshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Isorhamnetin Promotes 53BP1 Recruitment through the Enhancement of ATM Phosphorylation and Protects Mice from Radiation Gastrointestinal Syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 1514 ~ 1514
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/genes12101514	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Morita Akinori, Ochi Shintaro, Satoh Hidetoshi, Ujita Shohei, Matsushita Yosuke, Tada Kasumi, Toyoda Mihiro, Nishiyama Yuichi, Mizuno Kosuke, Deguchi Yuichi, Suzuki Keiji, Tanaka Yoshimasa, Ueda Hiroshi, Inaba Toshiya, Hosoi Yoshio, Aoki Shin	4. 巻 11
2. 論文標題 A Novel RNA Synthesis Inhibitor, STK160830, Has Negligible DNA-Intercalating Activity for Triggering A p53 Response, and Can Inhibit p53-Dependent Apoptosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1087 ~ 1087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/life11101087	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計6件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森田 明典、谷本 大河、東 優一、西山 祐一、昌子 紡己、村田 貴嗣、小向 杏佳、金井 昭教、國井 大誓、坂井 卓磨、貞富 凌、王 冰、下川 卓志、中田 健也、武村 直紀、齊藤 達哉、稲葉 俊哉、椎名 勇
2. 発表標題 炎症誘発性プラットフォームを標的とする放射線防護剤の開発
3. 学会等名 第60回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 シャラミラ ゴシュ、森田 明典、西山 祐一、東 優一、園山 雄一郎
2. 発表標題 急性放射線性腸炎における直腸上皮幹細胞の動態
3. 学会等名 日本放射線影響学会第66回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Taiga Tanimoto, Akinori Morita, Yuichi Nishiyama, Takatsugu Murata, Anjyu Sakai, Akinori Kanai, Yuichi Higashi, Taisei Kunii, Takuma Sakai, Ryo Sadatomi, Bing Wang, Takashi Shimokawa, Kenya Nakata, Naoki Takemura, Tatsuya Saitoh, Toshiya Inaba, Isamu Shiina
2. 発表標題 A novel immunomodulatory compound that prevents sub-total body irradiation-induced intestinal death
3. 学会等名 The 64th Annual Meeting of the Japan Radiation Research Society
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 東 優一、森田 明典、西山 祐一、村田 貴嗣、酒井 杏樹、金井 昭教、谷本 大河、坂井 卓磨、中田 健也、武村 直紀、齊藤 達哉、稲葉 俊哉、椎名 勇
2. 発表標題 抗炎症作用を有する新規化合物の腸炎制御剤としての活性評価
3. 学会等名 第29回日本Cell Death学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森田 明典、王 冰、田中 薫、勝部 孝則、村上 正弘、下川 卓志、西山 祐一、越智 進太郎、佐藤 秀哉、根井 充、青木 伸
2. 発表標題 p53を標的とした放射線防護剤の粒子線治療における役割
3. 学会等名 第58回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会・第49回放射線による制癌シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 谷本 大河、森田 明典、西山 祐一、村田 貴嗣、酒井 杏樹、金井 昭教、東 優一、越智 進太郎、國井 大誓、坂井 卓磨、貞富 凌、王 冰、下川 卓志、中田 健也、齊藤 達哉、稲葉 俊哉、椎名 勇
2. 発表標題 抗炎症作用を有する新規化合物の放射線防護剤としての活性評価
3. 学会等名 第58回日本放射線腫瘍学会生物部会学術大会・第49回放射線による制癌シンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

医用理工学分野-徳島大学医学部保健学科・大学院保健科学教育部ホームページ  
[https://www.tokushima-u.ac.jp/med/health\\_science/course/iyohoshasen/biomedical-science-technology/](https://www.tokushima-u.ac.jp/med/health_science/course/iyohoshasen/biomedical-science-technology/)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	森田 明典  (MORITA Akinori)  (90334234)	徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学域)・教授   (16101)	
研究分担者	金井 昭教  (KANAI Akinori)  (60549567)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・特任准教授   (12601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	青木 伸  (AOKI Shin)		
研究協力者	王 冰  (WANG Bing)		
研究協力者	笹谷 めぐみ  (SASATANI Megumi)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
インドネシア	インドネシア原子力庁			