

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15313

研究課題名（和文）がん化学療法誘発味覚障害における味覚神経変性の関与とそのメカニズム解析

研究課題名（英文）Involvement and mechanism of taste neurodegeneration in cancer chemotherapy-induced taste disorder.

研究代表者

宗 可奈子（So, Kanako）

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号：50816684

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、がん化学療法に使用する抗がん薬の一つであるシスプラチンにより発症した味覚障害において、味覚障害と味覚舌神経の変性が同時に発生することが明らかとなった。一方で舌の上皮に存在する味覚受容体の発現変化は、同時には発生しないことが明らかとなった。このことから、シスプラチン誘発味覚の発症には、味覚舌神経の変性がより関与する可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗がん薬によるがん化学療法で発生する副作用の中でも味覚障害は、患者の約半数に現れる主要な副作用であり、患者のQOLの著しい低下させ、治療継続を困難にさせる場合もある。しかし、味覚障害の有効な予防法や治療法は未だ確立されていない。そのためがん化学療法誘発味覚障害の発症メカニズムのさらなる解明および治療戦略の探索が非常に強く望まれている。本研究では、抗がん薬による味覚障害での味覚神経変性の関与の可能性を明らかにした。この結果は新たな予防・治療ターゲットの探索に寄与するのと考えている。

研究成果の概要（英文）：In this study, was found that taste disorder caused by cisplatin, one of the anticancer drugs used in cancer chemotherapy, and degeneration of the gustatory lingual nerve occur simultaneously. On the other hand, changes in the expression of taste receptors in the epithelium of the tongue did not occur simultaneously with taste disorder. These results suggest that degeneration of the gustatory lingual nerve may be more involved in cisplatin-induced taste disorder.

研究分野：医療薬学

キーワード：味覚障害 がん化学療法 化学療法誘発末梢神経障害 医療薬学 薬理学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

がん患者の数は高齢化に伴い年々増加しており、一生涯においておよそ 2 人に 1 人ががんと診断される。一方で新たな診断法や治療法が開発され、患者の生存率は飛躍的に向上してきている。これはがん治療が長期化していることを示し、化学療法を行いながら社会生活を営むいわゆるがんサバイバーが増加している。こうした患者の「がんとの共生」にとって重要となるのが、がん治療に伴う副作用をいかにコントロールし、以前と同じ生活を長く続けられるか、がん治療と長期間共存できるかという点である。

がん化学療法において味覚障害は、発現率の高い副作用の一つである。この味覚障害は患者に大きな影響をもたらし、食事量の低下から栄養状態の悪化、電解質異常や体重減少を招き、がん治療継続が困難となることもある。また、食べることは単に栄養を摂取するだけでなく、生きる上での大きな楽しみであり、味覚障害が患者の QOL を大きく損なうことは明白である。しかし未だに有効な予防法、治療法はなく、さらなる発症機構の解明と治療ターゲットの探索が求められている。

### 2. 研究の目的

抗がん薬のうち、白金系やタキサン系、アントラササイクリン系などは味覚障害を惹起させることが知られている。このうち、白金系抗がん薬であるシスプラチンやオキサリプラチン、タキサン系の抗がん剤であるパクリタキセルなどは、感覚神経の変性を引き起こし、感覚障害や痛みを主症状とする末梢神経障害も惹起することがよく知られている。さらに、抗がん薬が髄鞘を形成するシュワン細胞に直接作用し、感覚神経の脱髄や軸索障害といった神経変性を引き起こすこと、この時、神経毒性よりシュワン細胞の障害が先行して生じることが報告されている。味覚を伝導する舌神経は感覚神経と同じ末梢神経系であることから、研究代表者は、シスプラチンやオキサリプラチン、パクリタキセルなどが、舌神経においても同様の神経変性を引き起こし、この神経変性が味覚障害に関与するのではないかと考えた。そこで、白金系抗がん薬であるシスプラチンによって引き起こされる舌神経の変性が味覚障害の発症に関与するのかを明らかにし、さらに舌神経変性の惹起に関与する分子を同定することで、抗がん薬誘発味覚障害の発症機構のさらなる解明と治療ターゲットの探索を目的として研究を行った。

### 3. 研究の方法

#### (1) シスプラチン誘発味覚障害モデルラットの作製

10-11 週齢の雄性 Sprague-Dawley ラットにシスプラチン (2 mg/kg, i.p.) を週 1 回、7 週間 (計 8 回) 投与した。Control 群には Vehicle である生理食塩水 (0.9 %) を投与した。

#### (2) Brief-access test

Vehicle あるいはシスプラチンの 2 回目投与後、5 回目投与後および 8 回目投与後に本試験を実施した。試験にはリッキングテスト装置を使用した。まずラットにトレーニングを 3 日間行い、4 日目にテストを実施した。4 日目のテストでは、ラットを試験ケージに移し、給水孔より水を自由摂取させた後、味溶液および水を交互に提示し、lick 数を計測した。味溶液には甘味物質であるスクロースに苦味物質であるキニーネ塩酸塩 を添加した甘味苦味混合溶液を用い、ラットに対してスクロース濃度の高い順に提示した。各スクロース濃度において味溶液に対する lick 数と水に対する lick 数の比である lick ratio を算出し、ラットの味覚感受性の評価を行った。

$$\text{Lick Ratio} = [\text{味溶液に対する lick 数}] \div [\text{水に対する lick 数}]$$

#### (3) 電子顕微鏡観察

Vehicle あるいはシスプラチンの 2 回目投与後、5 回目投与後および 8 回目投与後の brief-access test 終了後、舌神経を採取した。4%パラホルムアルデヒドで経心灌流後、舌神経を採取し、4%パラホルムアルデヒド / 2%グルタルアルデヒド混合溶液で浸漬固定を行った。その後、1%オスミウムで後固定を行い、エポキシ樹脂標本 (超薄標本) を作製し、透過型電子顕微鏡により観察を行った。撮影した画像から軸索直径および円形度を算出し、舌神経の変性を評価した。

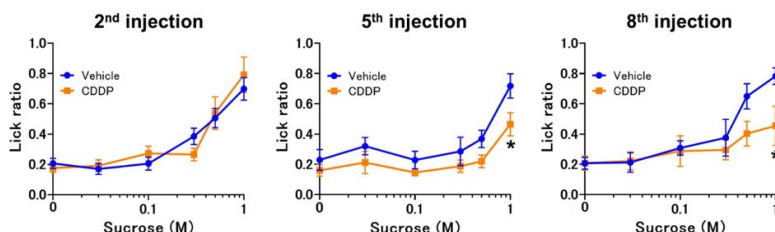
#### (4) 遺伝子発現変化の解析

Vehicle あるいはシスプラチンの 2 回目投与後、5 回目投与後および 8 回目投与後、舌上皮と舌神経を採取した。採取した舌上皮と舌神経から RNA の抽出を行なった後、逆転写し cDNA を得た。この cDNA を用い real-time PCR を行った。mRNA 発現量は、上皮味覚受容体では 型味細胞マーカーである RLC 2 を、舌神経シュワン細胞では GAPDH を用いて補正をした。

### 4. 研究成果

#### (1) シスプラチン誘発味覚障害モデルラットの味覚行動評価

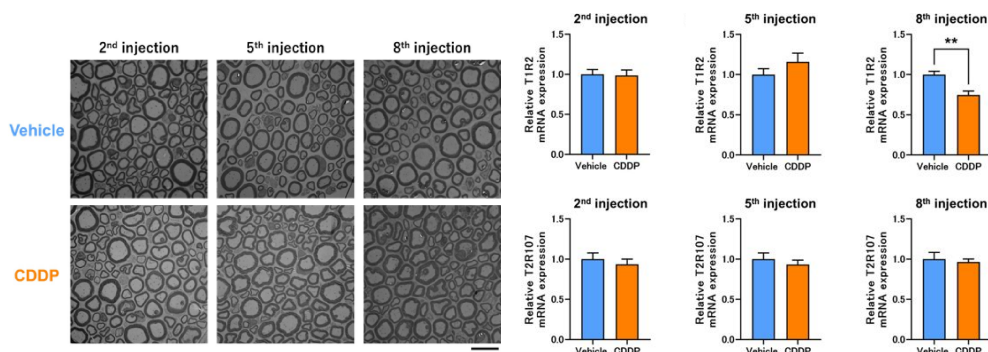
Vehicleあるいはシスプラチンの2回目投与後、5回目投与後および8回目投与後のラットにbrief-access testを行い、味覚感受性を評価した。本試験では、スクロース溶液に苦味物質であるキニーネ塩酸塩を添加した甘味苦味混合溶液を用いてラットのlick数を計測し、嗜好性の指標としてlick ratioを算出した。本試験において、Control群ではスクロース濃度の上昇によりlick ratioが増加した。Vehicleあるいはシスプラチンの5回目投与後及び8回目投与後の試験では、Control群と比較してシスプラチン群のlick ratioが有意に低下した。以上の結果から、シスプラチン5回目投与後以降、ラットの味覚感受性が変化し、味覚障害を発症することが示された。



シスプラチン投与による味覚感受性の変化

### (2) シスプラチン誘発味覚障害モデルラットにおける舌神経の組織学的検討

Vehicleあるいはシスプラチンを投与したラットから舌神経を採取し、その神経標本断面を電子顕微鏡により観察した。画像の定量化を行ったところ、8回目投与後において、直径5 μmよりも大きな神経線維で、Vehicle投与群と比較してシスプラチン投与群の軸索直径平均が減少し、直径5 μmよりも小さな神経線維では差は見られなかった。また、最大値を1とし0に近づくほど形が複雑化することを表す円形度を用いた評価では、5回目投与後、8回目投与後にVehicle投与群と比較してシスプラチン群において軸索円形度の大きい神経の割合が減少し、軸索円形度の小さい神経の割合が増加した。以上の結果から、シスプラチン5回目投与後以降舌神経が変性していることが示された。



シスプラチン投与による味覚舌神経の変性 シスプラチン投与による味覚受容体の発現変化

### (3) シスプラチン誘発味覚障害モデルラットでの舌上皮・舌神経シュワン細胞における遺伝子発現変化

甘味受容体サブユニットの一つであるT1R2については、シスプラチン2回目投与後および5回目投与後において、Vehicle群とシスプラチン群の間で差は見られなかったが、8回目投与において、Vehicle群と比較してシスプラチン群でそのmRNA発現レベルが有意に低下した。一方、苦味受容体サブユニットの一つであるT2R107については、2回目投与、5回目投与及び8回目投与のいずれにおいても、Vehicle群とシスプラチン群の間で差は見られなかった。

味覚舌神経シュワン細胞では、分化マーカーであるgalectin-3とKrox20、ミエリン鞘の構造タンパク質であるMyelin protein zero(MPZ)、Myelin basic protein(MBP)、Myelin-associated glycoprotein(MAG)において、2回目投与後および8回目投与後でVehicle群とシスプラチン群の間に有意な差は見られなかった

以上の結果から、シスプラチン投与による味覚障害の発症時期と味覚受容体遺伝子発現の低下は一致せず、舌神経軸索変性の発症時期と一致していることが明らかとなり、シスプラチン誘発味覚障害の原因として、味覚受容体遺伝子の変動よりも神経軸索変性の方がより大きく寄与している可能性が示された。さらにこの時に舌神経軸索変性には、舌神経シュワン細胞の脱分化やミエリン構造タンパク質の遺伝子発現変化は関与しないことが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Sasaki Y, Tatsuoka H, Tsuda M, Sumi T, Eguchi Y, So K, Higuchi Y, Takayama K, Torisawa Y, Yamashita F	4. 巻 45
2. 論文標題 Intestinal Permeability of Drugs in Caco-2 Cells Cultured in Microfluidic Devices	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biol Pharm Bull	6. 最初と最後の頁 1246-1253
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b22-00092.	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 Wang M, Tsuda M, Deguchi S, Higuchi Y, So K, Torisawa YS, Takayama K, Yamashita F	4. 巻 627
2. 論文標題 Application of perfluoropolyether elastomers in microfluidic drug metabolism assays	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Int J Pharm	6. 最初と最後の頁 122253
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ijpharm.2022.122253.	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 Zhang Q, Taniguchi S, So K, Tsuda M, Higuchi Y, Hashida M, Yamashita F	4. 巻 47
2. 論文標題 CREB is a potential marker associated with drug-induced liver injury: Identification and validation through transcriptome database analysis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Toxicol Sci	6. 最初と最後の頁 337-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2131/jts.47.337.	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 江口由佳、佐々木優子、津田真弘、角 拓己、宗可奈子、樋口ゆり子、山下富義
2. 発表標題 マイクロ流体デバイスにおけるCaco-2細胞層を介した薬物輸送に対する流れ刺激の影響
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 角 拓己、津田真弘、江口由佳、宗可奈子、樋口ゆり子、山下富義
2. 発表標題 粘液および腸内細菌を導入したgut on a chipの開発
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大藪由依、松尾遼太郎、飯田百香、狩野宗一郎、宗可奈子、津田真弘、山下富義
2. 発表標題 シスプラチン誘発味覚障害における 味覚舌神経変性の関与
3. 学会等名 日本薬学会 第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宗可奈子 松尾遼太 飯田百香 狩野宗一郎 大藪由依 津田真弘 山下富義
2. 発表標題 Cisplatin induces gustatory nerve degeneration in taste disturbance model rats.
3. 学会等名 第95回日本薬理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松尾遼太郎 飯田百香 狩野宗一郎 大藪由依 宗可奈子 津田真弘 山下富義
2. 発表標題 シスプラチン誘発味覚障害モデルラットにおける味覚舌神経変性
3. 学会等名 第71回日本薬学会関西支部総会・大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------