

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461913

研究課題名(和文)放射線治療における腸管の耐容能向上を図る機能性食品の開発

研究課題名(英文)Development of radioprotective agents for the intestine in radiotherapy

研究代表者

江島 泰生 (EJIMA, YASUO)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：70423233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：より強力な放射線治療を行うために正常組織の防護は重要な課題である。我々は抗酸化作用をもつ還元型コエンザイムQ10に着目し、その放射線防護作用についてマウス腸管を用いて研究を行った。還元型コエンザイムQ10は放射線照射によって発生する活性酸素を減少させることでマウス小腸絨毛の放射線障害を減弱し、陰窩細胞のアポトーシスを減少させた。一方、癌細胞に対するコエンザイムQ10の効果は、正常細胞とは対照的に活性酸素発生を増加させて細胞の生存率を減弱させることが示された。さらに、メタボロミクス解析によってタウリンが腸管の放射線障害のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Protection of normal structure of the intestine is important under intense radiation therapy. We focused on the reduced form of Coenzyme Q10 (reduced-CoQ10), which is an antioxidant and naturally available in the human body, and examined its radioprotective effect on the small intestine of mice. Reduced-CoQ10, when administered orally, diminished the radiation-mediated damage of villi and apoptosis in intestinal crypt cells, and also reduced reactive oxygen species (ROS) production upon irradiation. In contrast to that in normal cells, reduced-CoQ10 did not diminish the cytotoxic effects of irradiation in tumor cells in vitro, but decreased their survival by increasing ROS production. Further, to clarify the metabolic changes induced by reduced-CoQ10 and irradiation, metabolomics analysis of mice serum and intestinal tissue samples was performed. Metabolomic profiling identified taurine as a potential biomarker for radiation-mediated damage of the intestine.

研究分野：放射線科学

キーワード：放射線治療 抗酸化物質 放射線防護

1. 研究開始当初の背景

腹部放射線治療においては、放射線による消化管障害のために十分な根治的放射線量の投与が困難な症例が数多く存在する。肝臓や膵臓、腎臓など腹部実質臓器には解剖学的に消化管が近接しており、それら腸管の放射線に対する耐容線量が低いことが放射線治療を困難にしている。消化管防護手段の開発は治療成績向上のための重要な鍵であると考えられる。

がんや動脈硬化などの生活習慣病や老化促進に、活性酸素やフリーラジカルによる生体組織の酸化が密接に関連していることが近年明らかとなり、これを予防するために、カテキン、ビタミン E やコエンザイム Q10 (CoQ10) などの抗酸化物質の積極的な摂取が有効とされている。放射線照射により細胞内には活性酸素、特にヒドロキシラジカル ($\cdot\text{OH}$) が発生する。ヒドロキシラジカルは反応性が強く、細胞の DNA を損傷することにより細胞死を誘導すると考えられている。抗酸化物質による放射線防護効果が期待されるようないくつかの報告もみられるが、その有効性についてはまだ明らかにはなっていない。

CoQ10 は肉類や魚介類などの食品に含まれる脂溶性の「ビタミン様物質」として知られ、ヒトの体内でも合成されている。体内の CoQ10 は、心臓、肝臓、膵臓、腎臓、副腎などに多く分布し、細胞内では主にミトコンドリア内膜、血液中では LDL などのリポタンパク質に結合して存在している。CoQ10 の体内における働きは、電子伝達系における補酵素として体内のエネルギー単位である ATP の産生に関与し、特にその還元体であるユビキノールは抗酸化物質として注目されている (図 1)。

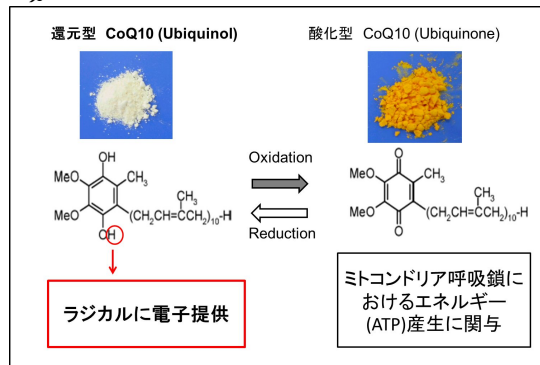


図 1. 還元型および酸化型コエンザイム Q10

また、我々は腹部悪性腫瘍の放射線治療において消化管の照射線量を低減する方法としてスパーサーを留置する方法を開発してきた。抗酸化食品とスパーサー留置を併用し高精度照射技術を用いることで、放射線治療の消化管障害を抑えて高線量の投与を行うこ

とが可能となり、腹部悪性腫瘍の治療成績を飛躍的に向上させることを期待している。

2. 研究の目的

(1) 放射線治療における腸管の耐容能向上を図る機能性食品として還元型 CoQ10 の抗酸化作用に着目し、放射線消化管障害からの防護効果とその作用機序を明らかにするための前臨床的基礎研究を行う。

(2) CoQ10 の投与と、開発中の体内吸収性素材スパーサーを用いて放射線照射野から腸管の回避を行う方法とを併用することで、腹部放射線治療の根治性と安全性を向上させ得ることを検証するための動物実験を行う。

3. 研究の方法

(1) 腸管に対する CoQ10 の放射線防護効果の確認

CoQ10 をマウスに経口投与し、腹部にエクウス線照射を行う。その後、摂餌量変化・体重変化を観察する一方で、腸管組織を採取して絨毛構造の変化、陰窩細胞のアポトーシス、活性酸素 (ROS) 発生を観察する。

(2) 癌細胞への CoQ10 の効果

CoQ10 が癌細胞への放射線治療効果を減弱させないかの検証を行う。癌細胞株を用いて CoQ10 投与と放射線照射に対する生存率分析と ROS 発生について解析する。

(3) 放射線照射による腸管障害のバイオマーカーの探索

代謝変化の面から CoQ10 の作用機序を検討するために、メタボロミクス解析を用いて、放射線腸管障害のバイオマーカーとなる代謝物質の網羅的探索を行う。

4. 研究成果

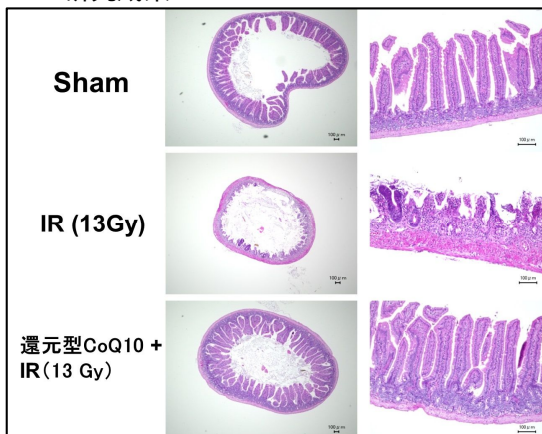


図 2. 放射線照射と CoQ10 投与によるマウス小腸絨毛の形態変化

(1) マウスに還元型 CoQ10 を経口投与することによって、放射線照射による腸管障害が減弱することを確認した。照射のみのマウスの小腸絨毛構造は消失していたのに対し、還

元型 CoQ10 投与を行ったものは照射後も絨毛構造が保たれていた (図 2)。その際、小腸絨毛の陰窩細胞の放射線照射後のアポトーシスは、CoQ10 投与群で減少しており、特に酸化型より還元型 CoQ10 において顕著だった (図 3)。また照射後の絨毛内での ROS 発生も還元型 CoQ10 投与群では有意に減弱しているという結果が得られた (図 4)。

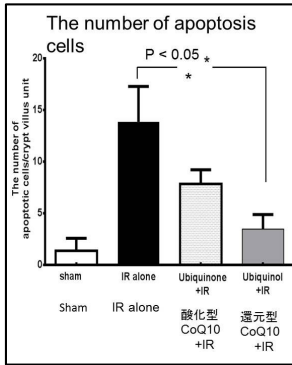


図 3. 照射後絨毛組織でのアポトーシス

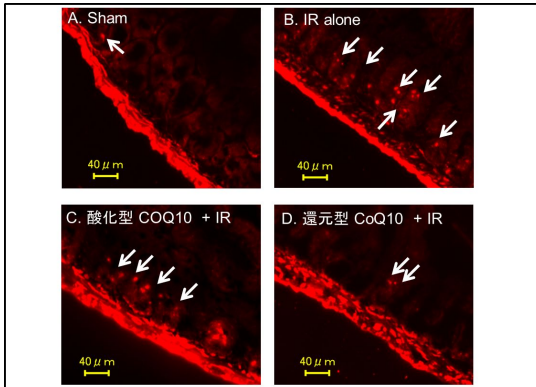


図 4. 絨毛組織での照射による活性酸素(ROS)発生と還元型 CoQ10 の ROS 抑制効果 (発色部が ROS の存在を示している)

(2) 癌細胞株に対して還元型 CoQ10 が放射線照射の効果を減弱させないか実験を行った。その結果、本薬剤の併用で照射の効果は減弱せず (図 5)。また、癌細胞内では正常細胞とは反対に ROS 発生が上昇し、細胞増殖能は抑制されることが観察された (図 6)。

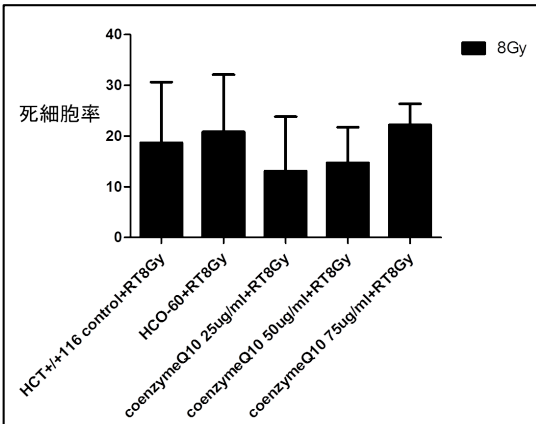


図 5. 癌細胞株への照射と CoQ10 併用効果

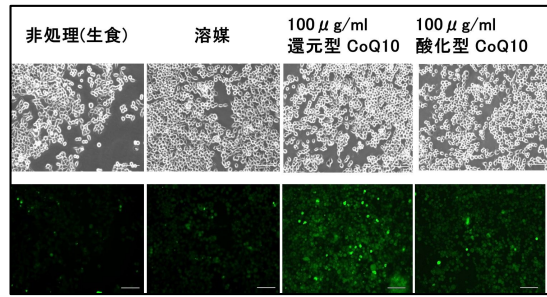


図 6. 癌細胞株での CoQ10 による ROS 増加 (発色部が ROS の存在をしめす)

(3) 次いで、放射線照射によっておこる生体内の代謝変化を網羅的に解析することで、腸管ダメージのバイオマーカーとなる代謝産物を同定することを試みた。マウスの腹部に放射線照射を行った後、腸管組織を採取しメタボリックプロファイリングについて解析した。その結果、抽出された約 500 の代謝物の中から非照射群と有意差のある約 150 の代謝物を同定した。さらに、同様の実験を繰り返し、すべての実験において同傾向の代謝変動を示す物質としてタウリンを同定した (図 7)。

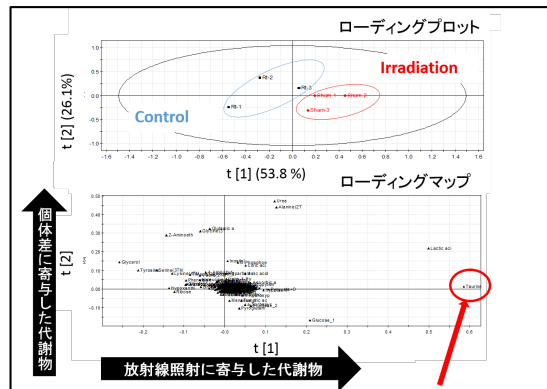


図 7. メタボロミクス解析によるタウリンの同定

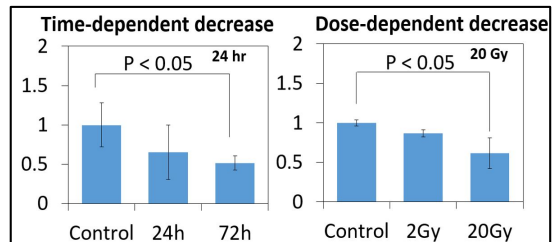


図 8. 照射後のタウリンの変化

体内におけるタウリンの代謝は腸管組織において、放射線照射後に一貫して減少していた。また、継時的、線量依存的にもタウリンの代謝が減少傾向であることが示された (図 8)。このように一貫した代謝変動を示した代謝物はタウリンのみであることも解析により明らかになり、タウリンが腸管障害のバイオマーカーである可能性が示唆された。この結果は国際学会にて報告した。(The 4th

International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals)

還元型コエンザイム Q10 が ROS 産生に影響を及ぼすことによって放射線防護効果および癌細胞への増殖抑制効果を示すことが示唆された。安定した効果を得るための投与条件設定を一層突き詰めて確立する必要がある。また、放射線照射による腸管障害の作用機序について、新たなバイオマーカーとなる代謝物としてタウリンが有力な候補として挙げられる。その代謝変化へのコエンザイム Q10 の影響についてさらなる検討を考えている。

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 0 件)

[学会発表](計 7 件)

S Osuga, Discovery of novel Index of radiation gastrointestinal disorders via metabolomics. The 4th International Symposium of Training Plan for Oncology Professionals, 2016 年 2 月 27 日~28 日、Osaka, Japan

Ryohei Sasaki, Hiroaki Akasaka, Daisuke Miyawaki, Yusuke Demizu, Shigeru Yamada, Masao Murakami, Takumi Fukumoto

Development of a new medical device for particle therapy: Experience of bioabsorbable spacer at the stage of clinical test. 日本放射線腫瘍学会第 28 回学術大会、2015 年 11 月 19 日~21 日、ベシア文化ホール(群馬県前橋市)

Hiroaki Akasaka, 新規体内吸収性Spacerを用いた腹部放射線治療法の基礎開発検討、第 3 回神緑会 YIA 発表会、2015 年 10 月 31 日、神戸大学(兵庫県神戸市)

R Sasaki, Translational radiotherapeutic approaches toward pancreatic cancer. Bio-absorbable spacer and bio-modulation by foods: efficacy of reduced form coenzyme Q10 and monogalactosyl diacylglycerol(MGDG) from spinach.

The 2nd EU-Japan International Forum on Health Management, 2015, Oct12-13, Wageningen, Nederland

Hiroaki Akasaka, Takumi Fukumoto, Daisuke Miyawaki, Naritoshi Mukumoto, Wang Tien Yuan, Shigeru Yamada, Masao Murakami, Yusuke Demizu, Ryohei Sasaki A Future Method: Space Modulated Particle Therapy (SMPT) Using a Novel Bioabsorbable Spacer, The 3rd Japan-Taiwan Radiation Oncology

Symposium, 2015 年 6 月 27 日~28 日、山梨県山梨市

Saki Osuga, Naritoshi Mukumoto, Nelly Binti Idrus, Ray Uchida, Hiroaki Akasaka, Daisuke Miyawaki, Yoshiro Matsuo, Yasuo Ejima, Mitsuaki Kitano, Hiroshi Kubo, Hideyuki Kishida, Takahiro Yasuda, Ryohei Sasaki

A Novel method of Radioprotection for the Gastrointestinal System: Efficacy of the reduced form of Coenzyme Q10.

International Congress of Radiation Research (ICRR), 2015 May25-29, Kyoto, Japan

佐々木良平、棕本成俊、ネリー、赤坂浩亮、ノルシャズリナ、内田 玲、上園 玄、江島泰生、保多 隆。還元型コエンザイム Q10 を用いた放射線治療の効果比に関する基礎的検討。日本放射線腫瘍学会第 27 回学術大会、2014 年 12 月 11 日 13 日、パシフィコ横浜、神奈川

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

6. 研究組織

(1)研究代表者

江島 泰生(EJIMA, Yasuo)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 70423233

(2)研究分担者

佐々木 良平(SASAKI, Ryohei)

神戸大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 30346267

吉田 賢史(YOSHIDA, Kenji)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 80351906

宮脇 大輔(MIYAWAKI, Daisuke)

神戸大学・医学(系)研究科・助教

研究者番号: 30546502

(3)研究協力者

大須賀 彩希(OSUGA, Saki)

犬伏祥子(INUBUSHI, Sachiko)

棕本 成俊(MUKUMOTO, Naritoshi)

赤坂 浩亮(AKASAKA, Hiroaki)

清水 康之(SHIMIZU, Yasuyuki)

内田 玲(UCHIDA, Ray)