

令和元年5月28日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20693

研究課題名(和文) 抗がん剤投与ラットにおけるユビキノールの口腔粘膜炎予防効果の検討

研究課題名(英文) Preventive effect of ubiquinol on oral mucositis after administration of anticancer drug in rats

研究代表者

米田 俊樹 (Yoneda, Toshiki)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：60756071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的は、ユビキノールの口腔粘膜炎発症予防効果について検討することである。平成28年度は抗がん剤による口腔粘膜への影響について検討し、平成29年度はユビキノールの効果を検討する前段階として、抗がん剤投与ラットにおける口腔粘膜炎モデルを確立することを検討したが、再現性が乏しく口腔粘膜炎モデルの改良が懸念された。平成30年度は前年度の改善を目指し、口腔粘膜炎モデルの再現性を含めた改良モデルの検討を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的な特色は、副作用の少ない抗酸化物質(ユビキノール)に着目して、がん化学療法における口腔粘膜炎の発症予防方法を確立することにある。また、発症してからの治療方法ではなく、口腔粘膜炎が発症しにくい口腔環境の形成を目指している点が独創的である。

近年、周術期管理等における医科歯科連携はますます重要視されてきている。化学療法により口腔粘膜炎を発症し、経口からの栄養摂取や患者自身での口腔ケアが困難となるケースは数多く存在し、本研究の成果を用いて口腔粘膜炎の効果的な予防方法を確立することは、がん治療患者が質の高い生活を送る上で不可欠であると考えている。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to investigate the preventive effects of topical application of ubiquinol on oral mucositis induced 5-fluorouracil (5-FU) administration. In 2016, we investigated the influence on the oral mucosa by 5-FU administration. In 2017, we investigated to establish a model for oral mucositis in rats induced 5-FU. However, reproducibility is poor and there is a concern about improvement of the oral mucositis model. In 2018, we also investigated to establish a improvement model for oral mucositis.

研究分野：公衆衛生学

キーワード：口腔粘膜炎 5-フルオロウラシル ユビキノール 動物実験 化学療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

本研究は、ユビキノールによる口腔粘膜炎の発症予防効果を、ラットモデルを用いて明らかにすることを目指そうとした。

平成 28 年度では、口腔粘膜炎の発症モデルを確立する。5 日間抗がん剤 (メソトレキセート : 2mg/kg) を投与した後、注射針で口腔粘膜を擦過し、口腔粘膜炎の発症を時系列的に評価する。また、ROS 産生による組織ダメージ (酸化ストレス) の程度も測定する。

平成 29 年度では、ユビキノールの至適濃度を確認する。抗がん剤の投与と同時に軟膏をユビキノールの配合濃度を変えて口腔粘膜に塗布する。そして、抗がん剤による口腔粘膜の ROS 産生を抑制するのに適したユビキノール配合濃度を決定する。

平成 30 年度では、平成 28 年度に確立した口腔粘膜炎モデルを用いて、ユビキノール配合軟膏の効果を、病理組織学的、生化学的に検討する。また、蛍光色素であるアミノベンゾピラノキサントニン系色素 (ABPX) を用いて、投与したユビキノールの口腔粘膜内への浸透状況についても評価を加える。

## 2. 研究の目的

がん化学療法の副作用として口腔粘膜炎が発症する。口腔粘膜炎は、著しい自発痛や接触痛を伴うため、がん化学療法中の患者の QOL を大きく下げる。しかし、効果的な予防方法はまだ確立されておらず、対症療法を余儀なくされる。

がん化学療法における口腔粘膜炎の発症には、粘膜細胞で産生される活性酸素種が関与する。したがって、抗酸化物質による活性酸素種の消去は、口腔粘膜炎の発症を抑制することが期待される。申請者は、過去の研究において、ユビキノールに口腔組織中の活性酸素種を消去する能力があることを証明した。そこで本研究では、ユビキノールを配合した軟膏を用いて、がん化学療法中における口腔粘膜炎の発症予防効果を検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

本研究の目的は、ユビキノール配合軟膏の口腔粘膜炎発症予防効果を、ラットモデルを用いて検討することである。平成 28 年度では、口腔粘膜炎の発症モデルを確立する。5 日間抗がん剤 (メソトレキセート : 20mg/kg) を投与した後、注射針で口腔粘膜を擦過し、口腔粘膜炎の発症を時系列で評価する。平成 29 年度では、抗がん剤による口腔粘膜の ROS 産生を抑制するのに適したユビキノール配合濃度を決定する。平成 30 年度では、平成 28 年度に確立した口腔粘膜炎モデルを用いて、ユビキノール配合軟膏の口腔粘膜炎発症予防効果を、病理組織学的、生化学的に明らかにする。さらに、蛍光色素を用いて、ユビキノールの口腔粘膜への浸透状況を確認する。

## 4. 研究成果

平成 28 年度では、抗がん剤による口腔粘膜への影響について検討した。8 週齢 Wistar 系ラット 14 匹を、「生理食塩水投与 + ワセリン塗布」群と「抗がん剤投与 + ワセリン塗布」群の 2 群に分けた。1 日 1 回、5 日間、吸入麻酔下で生理食塩水または抗がん剤 (5-フルオロウラシル : 5-FU) (20mg/kg) を腹腔内投与し、ワセリンを 5 分間舌下面に塗布した。実験終了後、全身麻酔下で安楽死させ、心臓からの採血と舌の摘出を行った。5-FU の奏功を確認するために、白血球数を調べた。その結果、抗がん剤投与群は  $4971.4 \pm 1177.6$  個/ $\mu\text{L}$  であり、生理食塩水投与群の  $9066.7 \pm 2421.4$  個/ $\mu\text{L}$  と比べ有意に減少していた。一方、摘出した舌はブアン固定を行った後、組織切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色による評価を行った。しかし、炎症性細胞浸潤や潰瘍の形成などは認められなかった。また、組織中の酸化ストレスを評価する

ために、8-hydroxydeoxyguanosine の免疫染色を行い、陽性細胞率を比較した。その結果、抗がん剤投与群は  $27.52 \pm 4.56\%$  であり、生理食塩水投与群の  $6.67 \pm 1.85\%$  と比べ有意に増加していた。さらに、転写因子の nuclear factor- $\kappa$ B、および炎症性サイトカインのインターロイキン 1 の免疫染色を行い、陽性細胞率を比較した。いずれも、抗がん剤投与群は生理食塩水投与群と比べ、有意に増加していた。以上より、5-FU の腹腔内投与による舌下面の酸化ストレス・転写因子・炎症性サイトカインの増加が確認された。

平成 29 年度では、ユビキノールの効果を検討する前段階として、抗がん剤投与ラットにおける口腔粘膜炎モデルを確立することを目的とした。8 週齢 Wistar 系ラット 10 匹を、「抗がん剤投与 + 50%酢酸貼付」群（実験群）5 匹と「生理食塩水投与 + 50%酢酸貼付」群（コントロール群）5 匹の 2 群に分けた。1 日目および 3 日目に、吸入麻酔下で抗がん剤（5-フルオロウラシル：5-FU）（1 日目：100mg/kg、3 日目：65mg/kg）または生理食塩水を腹腔内投与した。また、3 日目には、50%酢酸を直径 3mm のろ紙に浸透させ、30 秒間舌下面に貼付した。その後、舌下面の状態を経時的に観察した。実験群のうち 2 匹では、5 日目に潰瘍を伴う口腔粘膜炎が発生した。一方、コントロール群ではいずれのラットにおいても、5 日目においても潰瘍を伴う口腔粘膜炎が発生しなかった。このことから、5-FU の腹腔内投与と舌下面への酢酸の貼付により、5 日目に潰瘍を伴うことが確認されたが、再現性のある口腔粘膜炎モデルの再検討が必要であると考えられた。

平成 30 年度では、再現性のある口腔粘膜炎モデルの検討を目的とした。8 週齢 Wistar 系ラット 20 匹を「抗がん剤投与 + 50%酢酸 30 秒貼付」群（30 秒群）5 匹、「抗がん剤投与 + 50%酢酸 1 分貼付」群（1 分群）5 匹、「抗がん剤投与 + 50%酢酸 3 分貼付」群（3 分群）5 匹、「抗がん剤投与 + 50%酢酸 5 分貼付」群（5 分群）5 匹の 4 群に分け前年度と同様の実験手順で、口腔粘膜炎発症の再現性検討を行った。その結果、1 分群、3 分群、5 分群ではすべてのラットに口腔粘膜炎の発症を認めた。このことから、50%酢酸は 1 分以上の貼薬によって舌下面に口腔粘膜炎が発症されることが分かった。

## 5 . 主な発表論文等

該当なし

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年：

国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6．研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。