

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：32206

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K17448

研究課題名（和文）マイトマイシンCの血管外漏出による皮膚傷害に対する治療法の評価と新規予防法の確立

研究課題名（英文）Evaluation of treatments for skin lesions caused by extravasation of mitomycin C and establishment of new preventive method

研究代表者

高石 雅樹 (Takaishi, Masaki)

国際医療福祉大学・薬学部・講師

研究者番号：50453410

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,900,000円

研究成果の概要（和文）：マイトマイシンC（MMC）の血管外漏出による皮膚傷害のメカニズムを解明すると共に、その治療法である冷罨法の有効性及びそのメカニズムを明らかにした。また、MMCの血管外漏出による皮膚傷害に対して適用実績が極僅かしかない治療薬のチオ硫酸ナトリウムにおいても、有効性を示し、これに副腎皮質ホルモン剤を併用することにより治療効果を増強する可能性が示唆された。さらに、亜鉛によるメタロチオネインの誘導を介したMMCの血管外漏出による皮膚傷害に対する新規予防法の可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マイトマイシンC（MMC）の血管外漏出による皮膚傷害において、その治療法である冷罨法や治療薬のチオ硫酸ナトリウム及び副腎皮質ホルモン剤の効果についての確かなエビデンスを提供することができ、医療従事者に対して治療法の選択における一助となると考えられる。また、MMCの血管外漏出による皮膚傷害を回避する新たな予防法確立の可能性を提示できた。これらにより、抗がん剤による化学療法で苦痛を感じている患者のQOL向上へ繋がると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We elucidated the mechanism of skin injury caused by extravasation of mitomycin C (MMC), and clarified the effectiveness of the cold compress and its mechanism. In addition, sodium thiosulfate, a therapeutic drug that has been applied very little to skin injuries caused by extravasation of MMC, also suggested effective and may enhance the therapeutic effect by concomitant use with corticosteroids. Furthermore, we found the possibility of a new preventive method for skin injury caused by extravasation of MMC derived from the induction of metallothionein by zinc.

研究分野：環境衛生学

キーワード：マイトマイシンC 血管外漏出 皮膚傷害 冷罨法 温罨法 チオ硫酸ナトリウム 副腎皮質ホルモン剤
メタロチオネイン

科研費による研究は、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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

抗がん剤の静脈注射剤において血管外漏出は0.1~6.5%の頻度で発生し、皮膚傷害が引き起こされる。抗がん剤は、血管外漏出時の皮膚傷害性に基づいて3種類に分類されている。そのうち最も傷害性の強い起壊死性抗がん剤では、静脈注射した際に投与ミス等により薬剤が血管外へ漏出すると、皮膚等の周辺組織へ重度の炎症を引き起こす。そしてこの血管外漏出による皮膚傷害では、漏出直後に起こる急性の傷害だけでなく、漏出より数日経過した後に引き起こされる遅発性の傷害も認められている。一方で、投与ミスによる血管外漏出が無い場合でも、投与部位周辺の皮膚に炎症が起こることは珍しくない。抗がん剤の血管外漏出による皮膚傷害に対する処置として、多くの薬剤では患部を冷却する冷罨法が用いられているが、一部の薬剤では患部を温める温罨法が推奨されている。しかしながら、冷罨法と温罨法のいずれを選択するかについて明確な根拠となる資料は少なく、臨床では経験的に実施されているにすぎない。他方、抗がん剤の血管外漏出により引き起こされた皮膚傷害に対して、副腎皮質ホルモン剤の皮下投与や塗布も多くの医療機関で実施されているが、単に副腎皮質ホルモン剤の抗炎症効果を期待して実施されているものであり、その治療効果は不確実である。しかも、副腎皮質ホルモン剤の皮下注射用製剤は存在せず、静脈注射用の製剤を適切な投与量の検討を行うことなくそのまま若しくは僅かに希釈した濃度で患者に皮下投与しているのが実態である。これら処置法の選択を誤ると、却って皮膚の炎症を悪化させてしまい、医療従事者はその選択に悩まされている。血管外漏出による炎症が引き起こされた患者は、抗がん剤による副作用に加えて、重度の皮膚炎症にも苦しむため、肉体的及び精神的苦痛が増大されてしまう。従って、皮膚傷害の適切な処置法を選択する必要があり、その根拠となる正確な情報を得ることが必須である。

我々はこれまでに、起壊死性抗がん剤の微小管機能阻害薬であるビノレルビン、パクリタキセル及びドセタキセルの医薬品製剤が、曝露初期より強い細胞傷害性を示すと共に、遅発性の細胞傷害を示すことを、数種の培養細胞を用いて明らかにしている。さらに、微小管機能阻害薬が炎症性サイトカインを誘導すると共に、酸化ストレスを引き起こすことを見出し、これらを臨床用薬液濃度よりも遥かに低濃度の副腎皮質ホルモン剤が顕著に抑制することを明らかにしている。

起壊死性抗がん剤のマイトマイシン C (MMC) は、静脈注射時には無症状でも、約1週間後より投与部位に炎症が認められ、その後潰瘍に移行することがあり、この症状が長期化するため、問題となっている。MMCは、二本鎖DNAへの架橋形成を介してDNA複製を阻害し、がん細胞の分裂を抑制すると共に、フリーラジカルによるDNA鎖切断も引き起こす。DNA結合型の薬剤では、血管漏出した薬剤が組織細胞中のDNAと結合し、細胞死を起こす。さらに、死滅した細胞から薬剤が再び放出され、周囲の細胞に取り込まれるため、広範囲かつ長期的に続く。MMCの血管外漏出では、冷罨法や副腎皮質ホルモン剤に加えて、チオ硫酸ナトリウムが用いられ、副腎皮質ホルモン剤と併用することにより治癒を早めることが報告されているものの、極僅かな使用実績しかなく、その有効性と共に作用メカニズムも不明である。

生体防御タンパク質メタロチオネインは、フリーラジカル消去作用を有し、様々な要因により容易に誘導合成される。そして金属によるメタロチオネイン誘導に起因した、次硝酸ビスマス製剤によるシスプラチン腎毒性の抑制、有機亜鉛化合物による紫外線防御効果などが報告されている。一方で、亜鉛を含有する軟膏は、皮膚の消炎効果や血管透過性減少効果などを有する。

2. 研究の目的

起壊死性抗がん剤であるMMCの医薬品製剤が血管外漏出した際に引き起こす皮膚傷害とそのメカニズムを、ヒト由来培養細胞株を用いて検討した。同時に、血管外漏出の誘引と成り得る血管内皮への傷害性を確認した。また、この皮膚傷害に対する処置法である冷罨法及び温罨法と、治療薬である副腎皮質ホルモン剤及びチオ硫酸ナトリウムの傷害抑制効果について検討した。さらに、血管外漏出による皮膚傷害や血管外漏出そのものに対する亜鉛を用いた新規予防法の確立を試みた。即ち、確かなエビデンスに基づき、MMCが血管外漏出により引き起こす皮膚傷害を回避する方策を確立すると共に、真に有用な臨床ケアを創出し、患者のQOLの向上を目的とした研究である。

3. 研究の方法

(1) MMCの皮膚傷害メカニズムの解明

正常ヒト皮膚線維芽細胞(SF-TY細胞)にMMCの臨床用薬液とその希釈溶液を0~72時間まで経時的に曝露し、細胞生存率及び乳酸脱水素酵素(LDH)放出量を指標にした細胞傷害性を測定した。また、正常ヒト血管内皮細胞(HUV-EC-C細胞)にMMCの臨床用薬液とその希釈溶液を2時間曝露し、細胞生存率を測定した。さらに、ヒト肝がん細胞(HepG2細胞)にMMCの臨床用薬液の希釈溶液を24時間曝露し、脂質過酸化の指標である細胞内マロンジアルデヒド濃度と、細胞内抗酸化系因子であるグルタチオン濃度及びカタラーゼ活性を定量した。

- (2) MMC の皮膚傷害に対する冷電法及び温電法の効果
SF-TY 細胞に、MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 23 (冷電法を想定) 37 (電法非処置を想定) 及び 41 (温電法を想定) で 0~96 時間まで経時的に曝露し、細胞生存率を測定した。また、SF-TY 細胞に、MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 23 及び 37 で 24 時間及び 72 時間曝露し、DNA 断片化を指標にアポトーシスが誘導された細胞を測定した。さらに、HepG2 細胞に MMC の臨床用薬液の希釈溶液を 23 及び 37 で 24 時間曝露し、細胞内マロンジアルデヒド濃度、グルタチオン濃度及びカタラーゼ活性を定量した。
- (3) MMC の皮膚傷害に対する治療薬の効果
SF-TY 細胞に、MMC の臨床用薬液と同時に、副腎皮質ホルモン剤とチオ硫酸ナトリウムの単独もしくは併用で 24 時間曝露し、細胞生存率を測定した。
- (4) MMC の皮膚傷害に対する予防法の確立
HepG2 細胞にメタロチオネイン誘導剤である亜鉛を 24 時間処理して除去した後、MMC の臨床用薬液の希釈溶液を 24 時間曝露し、細胞生存率を測定した。同時に、MMC 曝露時の細胞内メタロチオネイン濃度を定量した。

4. 研究成果

- (1) MMC の皮膚傷害メカニズムの解明
MMC の臨床用薬液及び希釈溶液により、細胞生存率が顕著に低下すると共に、細胞傷害性が認められた。MMC の臨床用薬液及び希釈溶液では、曝露 4 時間後から 72 時間後まで継続して細胞生存率が低下し続けた。HUV-EC-C 細胞では MMC の臨床用薬液及び希釈溶液の 2 時間曝露により、細胞生存率が低下した。MMC の臨床用薬液の希釈溶液により、細胞内 MDA 濃度が増加した。そしてこのとき、グルタチオン濃度及びカタラーゼ活性が増加した。
従って、MMC に強い細胞傷害性が認められ、漏出部位にて薬液が拡散・希釈した後も傷害性が維持されることが示された。そして、このとき酸化ストレスが引き起こされていることが明らかになった。また、MMC は血管内皮細胞に対しても傷害性を示すことが明らかとなり、投与ミス等の血管外漏出が無い場合でも、血管内に投与された MMC が短時間で血管内皮を傷害することにより、MMC の血管外漏出を誘発して皮膚傷害を引き起こすことが示唆された。
- (2) MMC の皮膚傷害に対する冷電法及び温電法の効果
MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 23 で曝露したところ、37 での曝露に比べて細胞生存率の低下が抑制された。一方、MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 41 で曝露した細胞では、37 での曝露に比べて細胞生存率の低下が増強された。そして、MMC の臨床用薬液においてはほぼ全ての細胞が死滅した時間は、37 での曝露では 24 時間後であったのに対し、23 での曝露では 96 時間後であった。また、MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 37 で曝露した細胞では、アポトーシスが誘導された細胞が増加した。一方、MMC の臨床用薬液とその希釈溶液を 23 で曝露した細胞では、アポトーシス誘導の増加が認められなかった。さらに、MMC の臨床用薬液の希釈溶液を 23 で曝露した細胞では、37 での曝露により増加する細胞内 MDA 濃度が抑制された。そしてこのとき、グルタチオン濃度及びカタラーゼ活性は、対照群と同程度のまま変化は認められなかった。
従って、冷電法は MMC が引き起こす皮膚傷害に対して抑制効果を示し、MMC が漏出部位で拡散・希釈した際にも有効であると共に、継続して実施することでその有効性が増強される可能性が考えられた。一方で、温電法は MMC が引き起こす皮膚傷害を増悪化する可能性が示唆された。そして、冷電法はネクローシスと共にアポトーシスを含む細胞死も抑制し、このとき引き起こされた酸化ストレスに対して抑制効果を示すことが明らかとなった。
- (3) MMC の皮膚傷害に対する治療薬の効果
MMC の臨床用薬液により低下する細胞生存率が、副腎皮質ホルモン剤単独では抑制しなかったが、チオ硫酸ナトリウム単独では抑制し、さらにチオ硫酸ナトリウムと副腎皮質ホルモン剤を併用することで対照群と同程度まで顕著に抑制した。
チオ硫酸ナトリウムは、シアンやヒ素中毒などの解毒剤として用いられている医薬品であるが、MMC の血管外漏出による皮膚傷害に対しては極僅かな使用実績しかなく、その有効性は不明であった。本研究では、チオ硫酸ナトリウムが MMC の細胞傷害に対して抑制効果を持つことを明らかにすると共に、有効性を示す濃度を見出した。また、チオ硫酸ナトリウムによる MMC の細胞傷害抑制効果を、副腎皮質ホルモン剤を併用することで増強させられる可能性が示唆された。
- (4) MMC の皮膚傷害に対する予防法の確立
亜鉛を処理することにより、細胞内メタロチオネイン濃度が増加した。そして、亜鉛をあ

あらかじめ処理した細胞では、MMC の臨床用薬液の希釈溶液による細胞生存率の低下が抑制された。

従って、生体防御タンパク質であるメタロチオネインを亜鉛等によりあらかじめ誘導させておくことで、MMC の血管外漏出による皮膚傷害に対する新規予防法を確立できる可能性が示唆された。

以上の結果から、MMC の血管外漏出による皮膚傷害のメカニズムを解明すると共に、その治療法である冷電法の有効性及びそのメカニズムを明らかにした。また、MMC の血管外漏出による皮膚傷害に対して適用実績が極僅かしかない治療薬のチオ硫酸ナトリウムにおいても、有効性を示した。さらに、亜鉛によるメタロチオネインの誘導を介した MMC の血管外漏出が引き起こす皮膚傷害に対する新規予防法の可能性を見出した。これらの確かなエビデンスに基づき、MMC が血管外漏出により引き起こす皮膚傷害を回避する方策を確立すると共に、真に有用な臨床ケアを創出し、患者の QOL 向上に繋げることができると考えられた。

今後、MMC の血管外漏出による皮膚傷害に対し、チオ硫酸ナトリウムと副腎皮質ホルモン剤の併用に冷電法を組み合わせることで、さらなる治療効果が得られるか検討を行う必要がある。また、MMC の血管外漏出による皮膚傷害に対する予防法確立への、亜鉛の投与経路等の詳細な検討を行う必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高石雅樹, 佐藤加奈, 佐々木恵, 平賀建, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの皮膚傷害に対する冷電法の抑制効果
3. 学会等名 第46回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高石雅樹, 田口亜依, 阿部翔, 佐々木恵, 平賀建, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの血管外漏出により引き起こされる皮膚傷害に対するメタロチオネインの抑制効果
3. 学会等名 医療薬学フォーラム2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高石雅樹, 佐々木恵, 平賀建, 佐藤加奈, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの細胞傷害に対する冷電法の抑制効果
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高石雅樹, 平賀建, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCによる血管外漏出誘発と皮膚傷害メカニズム
3. 学会等名 第45回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高石雅樹, 藤田康介, 平賀建, 佐々木恵, 山室愛子, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 起壊死性抗がん剤の細胞傷害性に対する曝露温度の影響
3. 学会等名 フォーラム2018: 衛生薬学・環境トキシコロジー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高石雅樹, 佐々木恵, 田口亜依, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCによる細胞傷害をチオ硫酸ナトリウム及びメタロチオネインは抑制する
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤加奈, 平賀建, 武田利明, 高石雅樹, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの血管外漏出誘発および冷電法による皮膚傷害抑制メカニズムの解明
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高石雅樹, 阿部翔, 田口亜依, 佐々木恵, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの血管外漏出が引き起こす皮膚傷害に対する予防及び治療法の検討
3. 学会等名 メタルバイオサイエンス研究会2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 田口亜依, 佐々木恵, 平賀建, 武田利明, 高石雅樹, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCによる細胞傷害に対するチオ硫酸ナトリウム水和物およびメタロチオネインの抑制効果
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平賀建, 佐々木恵, 武田利明, 高石雅樹, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの細胞傷害に対する冷電法の抑制効果
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高石雅樹, 佐藤加奈, 佐々木恵, 平賀建, 武田利明, 浅野哲
2. 発表標題 マイトマイシンCの細胞傷害に対する冷電法の抑制メカニズム
3. 学会等名 第47回日本毒性学会学術年会
4. 発表年 2020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
---------	---------