

令和 3 年 5 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K17284

研究課題名(和文)酸化ストレス可視化マウスによる、抗がん剤の酸化ストレスの検討

研究課題名(英文) Examination of oxidative stress caused by anticancer drugs in Keap 1-dependent oxidative stress detector-luciferase mice

研究代表者

片岡 広太 (Kataoka, Kota)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・助教

研究者番号：80744185

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)：がん治療における化学療法の副作用として、口腔領域では粘膜炎が挙げられ、発症には酸化ストレスが関与するが、その詳細は不明である。本研究では酸化ストレス可視化マウスを用いて抗がん剤による酸化ストレスの動態を可視化し、口腔粘膜炎発症との関係を探査することを目的とした。

酸化ストレス可視化マウスを5-FU(抗がん剤)+粘膜炎群、生食+粘膜炎群、ベースライン群の3群に分けた。可視化酸化ストレス発光量および血清中の酸化ストレスはともに5-FU+粘膜炎群、生食+粘膜炎群、ベースライン群の順に大きい傾向にあった。分子イメージングによる酸化ストレス評価は口腔粘膜炎モデルにおいても有用であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん治療は外科手術、化学療法、放射線治療が行われるが、近年は侵襲の少ない化学療法が多用されるようになってきている。化学療法における副作用として、口腔領域では粘膜炎が挙げられる。口腔粘膜炎はがん治療患者のQuality-of-lifeを低下させ栄養摂取にも悪影響を与え、がん治療の障害となりうる。口腔粘膜炎の発症には酸化ストレスが関与する。口腔粘膜炎を予防することは、がん治療を円滑に進めるうえで重要であるが、その予防法については確立されていない。

本研究にて、分子イメージングにより抗がん剤における粘膜炎部位の酸化ストレスを低侵襲で評価した。化学療法における口腔粘膜炎の発症予防に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：Surgery, chemotherapy, and radiation therapy are used for cancer treatment. Side effects of chemotherapy include mucositis in the oral region. The mechanisms of mucositis induced by chemotherapy include oxidative stress. However, the details are unknown. The aim of this study was to investigate the relationship between incidence of oral mucositis and oxidative stress through visualization of oxidative stress induced by chemotherapy in keap1-dependent oxidative stress detector-luciferase mice.

The mice were divided into three groups; 5-FU (anticancer drug) + mucositis, saline + mucositis, and baseline groups. The luciferase activity and expression of serum marker of oxidative stress in the 5-FU (anticancer drug) + mucositis group were greater than those in the saline + mucositis and control groups. Our findings suggest that the evaluation of oxidative stress by molecular imaging is useful in the model of oral mucositis.

研究分野：口腔衛生

キーワード：酸化ストレス 口腔粘膜炎 化学療法 分子イメージング

1. 研究開始当初の背景

我が国におけるがんの患者数は約 200 万人である。がん治療には外科手術、化学療法、放射線治療がある。近年は侵襲の少ない化学療法が多用されるようになってきている。化学療法はがん細胞のみならず正常細胞に対しても影響を与える。そのため、様々な副作用を伴うが、口腔領域では粘膜炎が挙げられる。

化学療法によって細胞内で活性酸素種 (Reactive oxygen species : ROS) が産生され「酸化ストレス」(生体内で生成する活性酸素群の酸化損傷力と生体内の抗酸化システムの抗酸化力との差) というバランスの崩れた生体反応が引き起こされる。また、ROS によって tumor necrosis factor- α や interleukin (IL)-1、IL-6 が産生され、細胞傷害や細胞死をきたす。その後、口腔粘膜に潰瘍が形成され、さらに潰瘍では口腔内細菌のリポ多糖によって炎症が増悪される。口腔粘膜炎はひとたび発症すると、増悪の一途をたどり、著しい自発痛や接触痛を伴う。その結果、がん治療患者の Quality of Life を低下させるだけでなく、経口栄養摂取が困難となり、栄養状態不良が原因でがん治療が遂行できなくなる。したがって、がん治療中の口腔粘膜炎を予防することは、がん治療を円滑に進める上で大変重要であるといえる。しかし、口腔粘膜炎に対する効果的な予防法は確立されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、酸化ストレス可視化マウスを用いて抗がん剤による酸化ストレスの動態をリアルタイムに可視化して、口腔粘膜炎発症との関係を探査することを目的とした。

3. 研究の方法

酸化ストレス可視化マウス (Tg 型 OKD-Luc マウス、トランスジェニック社) を用いた。ルシフェリン (15mg/mL, 0.01mL/g) を腹腔内に注射した。その後、生体内での酸化ストレスの分布と経時的变化を分子イメージングシステム (Lumazone、日本ローパー) を使用して調べた。

まず、5-fluorouracil (5-FU、抗がん剤) による化学療法における口腔粘膜炎の酸化ストレスの可視化を目標として実験を行った。5-FU のレジメンでは、低濃度を長期間服用する場合と、高濃度を一度に投与するものがあるが、文献検索の結果、低濃度を長時間服用するレジメンでより DNA の損傷が多いとされ、酸化ストレスの発生も多いことが判った。また、過去の研究では、粘膜炎が上皮までしか進展しないケースも多く、潰瘍を形成しない報告が多かったため、抗酸化療法の効果を強調するために、酢酸やリン酸を舌下面に限局して塗布することとした。

その結果、5-FU を 50mg/kg の濃度で 5 日間腹腔内投与した群では、生理食塩水を投与した対照群では著明な体重減少が認められ、とさつ時の心臓から採取した血液では酸化ストレスの指標である Diacron-Reactive Oxygen Metabolites (d-ROMs テスト) 値の減少、抗酸化力の指標である Oxygen (OXY) 吸着値の低下が認められた。

また、粘膜炎の惹起のために舌下部に酢酸を塗布して、口内炎モデルの確立を行った。

最終年度に、酸化ストレス可視化マウスを 5-FU + 粘膜炎群、生食 + 粘膜炎群、ベースライ

ン群の3群に分けた。処置群には、抗がん剤として5-FUを50mg/kgを腹腔内投与した。対照群には生理食塩水を同量投与した。また、処置群と対照群ともに、口腔粘膜炎を誘発させるため舌に酢酸を塗布した。さらに、未処置のマウスをベースラインとした。各群において、1週間後に酸化ストレス発光測定を行った後、と殺し血液を採取した。

また、予備実験にて、同マウスにおける性差による影響は認められないことを確認した。

(1) 動物

酸化ストレス可視化マウス：34.1 ± 10.3g、・ 9匹

以下の3グループに分けた。

）ベースライン群（ベース群）(n=3)

）生理食塩水腹腔内投与 + 口腔粘膜炎誘発群（生食 + 粘膜炎群）(n=3)

）5-FU 腹腔内投与 + 口腔粘膜炎誘発群（5-FU + 粘膜炎群）(n=3)

(2) 酸化ストレス発光測定

各群において、1週間後に舌・口腔粘膜炎部の酸化ストレス発光を測定し、3群間で比較した。

(3) 血清中酸化ストレス評価

各群において、と殺後に全血採取し血清を抽出した。その後、血清における酸化ストレスを評価するため、d-ROMs テスト、OXY 吸着テストを行った。また、d-ROMs テストと OXY 吸着テスト結果から、酸化ストレスインデックスを算出し、3群間で比較した。

4. 研究成果

(1) 酸化ストレス発光について

舌・口腔粘膜炎部の酸化ストレス発光量は5-FU + 粘膜炎群、生食 + 粘膜炎群、ベース群の順に大きい傾向にあったが、有意な差は認めなかった。

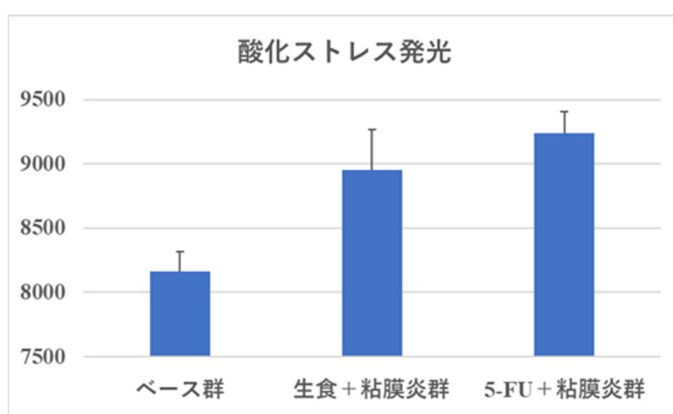


図1. 各群のリアルタイム酸化ストレス発光結果

(2) 血清中酸化ストレス評価について

血清中における d-ROMs テスト (U.CARR) と OXY 吸着テスト (μmol/ml) において、

ともに有意な差を認めなかった。d-ROMs テストにおいて、ベース群と比較し、生食+粘膜炎群と 5-FU+粘膜炎群は高い傾向にあった。一方、OXY 吸着テストにおいて、ベース群と比較し、生食+粘膜炎群と 5-FU+粘膜炎群は低い傾向にあった。

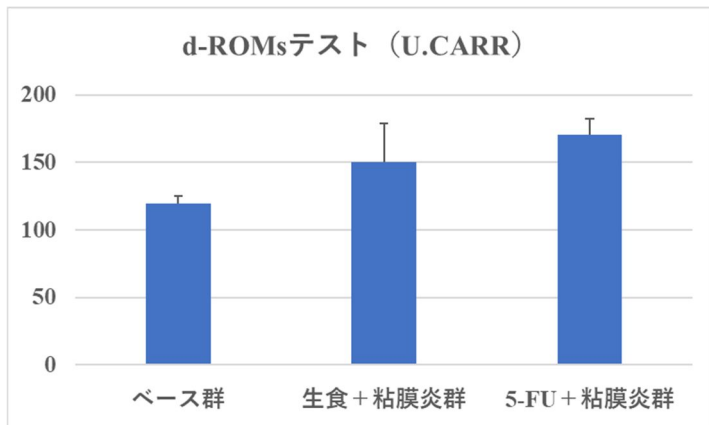


図2 . 各群の d-ROMs テスト結果

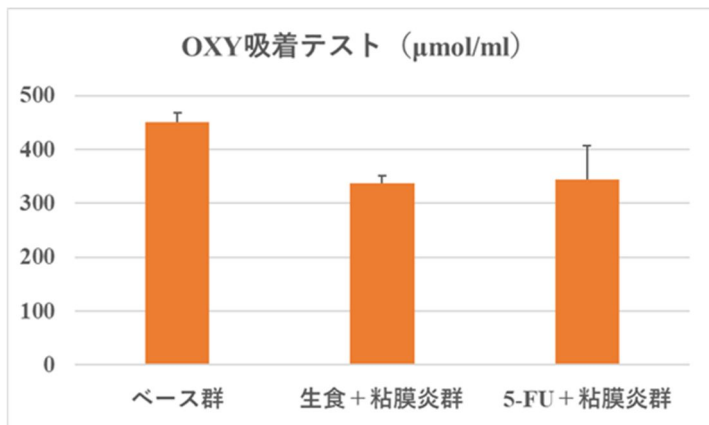


図3 . 各群の OXY 吸着テスト結果

また、d-ROMs テストと OXY 吸着テスト結果から、酸化ストレスインデックスを算出したところ、5-FU+粘膜炎群、生食+粘膜炎群、ベース群の順に大きい傾向にあったが、有意な差は認めなかった。

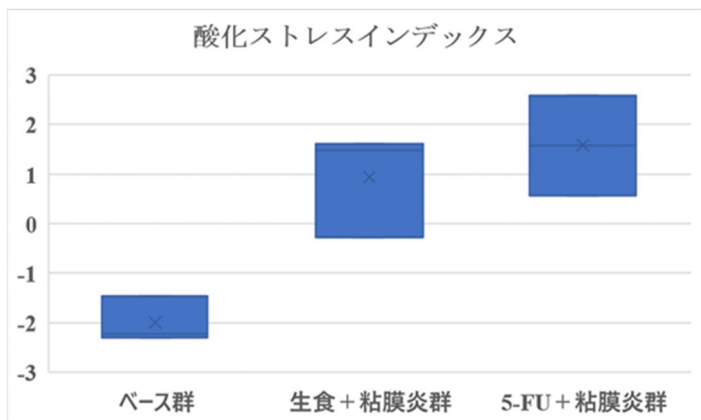


図4 . 各群の酸化ストレスインデックス結果

(3) 酸化ストレス発光と血清中酸化ストレスとの比較について

本研究において、酸化ストレス可視化マウスを用いた舌・口腔粘膜炎部の酸化ストレス発光測定結果は、血清中における酸化ストレス値と同様の傾向(5-FU+粘膜炎群>生食+粘膜炎群>ベース群)を示した。これは、採血という侵襲を与える代わりに、非侵襲的に局所の酸化ストレスの動態をリアルタイムに可視できる可能性を示唆する。

以上の結果により、分子イメージングによる酸化ストレス測定は化学療法による口腔粘膜粘膜炎モデルにおいても有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------