

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：82502

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K08164

研究課題名(和文)放射線障害防護分子としてのFGFの機能解析

研究課題名(英文)Functional analysis of FGF as radioprotective molecules

研究代表者

川野 光子(Kawano, Mitsuko)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命・医学部門・主幹研究員

研究者番号：90422203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：多くの成長因子は、放射線障害防御効果を有する。線維芽細胞増殖因子(FGFs)もその一つであり、治療効果を高めるためにヘパリン(HP)を併用するが、HPは強い抗凝固作用を持つため、HPの臨床使用は限られている。HPに代わる安全な分子の開発が求められており、硫酸化ヒアルロン酸(HA)に着目した。

高硫酸化HA(HA-HS)をFGF1とともに投与した場合、放射線による腸管障害に対する防護効果を示すとともに、照射後の腸管の再生を促進した。また、HA-HSはHPより弱い抗凝固作用を示した。従って、HA-HSは出血の危険性のない安全なHP代替品として、放射線誘発腸管障害の予防と治療に応用できる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線維芽細胞増殖因子の放射線防護作用を最大限に引き出すためには、ヘパリンなどの糖鎖分子の併用が必要であるが、ヘパリンは強い抗凝固作用を有するため、出血の危険性のない併用分子の開発が求められていた。本研究により、高硫酸化ヒアルロン酸が、放射線腸管障害に対する防護作用および腸管の再生促進作用を有することに加え、ヘパリンに比べて抗凝固作用が弱いことが示された。したがって、がんに対する放射線治療時の正常組織障害の防護に関し、線維芽細胞増殖因子と高硫酸化ヒアルロン酸を併用することで、腸管障害を回避する安全な予防・治療法の開発が見込まれる。

研究成果の概要(英文)：Many growth factors have protective effects for radiation damage after radiation

therapy. Although heparin can be supplemented to increase the therapeutic effects of fibroblast growth factors (FGFs), it has strong anticoagulant effects so that clinical use of heparin is limited. Therefore, safe molecule is required to develop for replacement of heparin, we focused on hyaluronic acid (HA) sulfated with various level. This study examined the involvement of sulfated HA in radioprotective and anticoagulant effects.

This study demonstrated that high-sulfated HA (HA-HS) protected against radiation-induced intestinal damage and promoted regeneration of the intestine after irradiation in case of administration with FGF1. Furthermore, HA-HS showed weaker anticoagulant effects than HP. Therefore, HA-HS is an ideal HP substitute without the risk of hemorrhage and has great potential to be applied in the prevention and treatment of radiation-induced intestinal damage.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：放射線防護 線維芽細胞増殖因子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

申請者はこれまでに、ヒトの放射線障害の病態を効率的に再現するマウスモデルを構築し、放射線照射前後の組織の状態を詳細に解析すると同時に、放射線障害の防護に介入することが予想される線維芽細胞増殖因子 (FGF) メンバーの探索を行ってきた。この解析により、放射線障害として高頻度に観察される放射線毛包障害および放射線腸管障害において FGF18 および変異型 FGF1 がその防護において重要であることを見出した。

一方で、FGF の放射線防護作用を最大限に引き出すためには、ヘパリンなどのグリコサミノグリカンの併用が必要であるが、ヘパリンは強い抗凝固作用を有するため、出血の危険性のない併用分子の開発が求められていた。したがって、本研究提案では、FGF の放射線防護効果に負の影響を示さず、出血の危険性のない安全な併用薬剤の開発を目的とした。

### 2. 研究の目的

放射線障害に対する予防・治療標的の探索の必要性は、2011年3月の福島第一原子力発電所の事故以降、社会的に広く認知されている。また、放射線によるがん治療の現場においては、放射線障害は患者のQOLを低下させる要因となっている。放射線治療をこれまで以上にパワフルで安全性の高いがん治療法に昇華させるためには、放射線障害に対する予防・治療法の開発が必須である。本研究提案では、放射線障害の病態を再現する動物モデルを用い、申請者がこれまでに見出した放射線防護効果を有する可能性が示唆される分子について、その防護作用を最大限に引き出し、放射線障害の予防・治療法を開発することを目的とした。

### 3. 研究の方法

申請者はこれまでに、ヒトの放射線障害の病態を効率的に再現するマウスモデルを構築し、放射線照射前後の組織の状態を詳細に解析すると同時に、放射線障害の防護に介入することが予想される FGF メンバーの探索を行ってきた。本研究提案では、具体的に FGF 分子が放射線から腸管をどのように防護するのか、その作用機序に着目し、安全な予防・治療薬開発を見据えた基盤研究を実施した。具体的には、投与する FGF および標的細胞上の FGF 受容体と三者複合体を形成し、FGF が機能を発揮するために必須であるグリコサミノグリカンについて、現在使用されているヘパリンに比べてより安全な分子の探索、治療法の開発にむけて、硫酸化ヒアルロン酸 (HA) に着目し、以下を実施した。

- ・硫酸化度の異なる各種硫酸化 HA を化学的に合成
- ・硫酸化 HA の FGF1 への結合能および血液抗凝固能を検討
- ・in vitro において FGF1 による細胞増殖活性の検討
- ・ガンマ線照射による腸管障害マウスモデルを用い、硫酸化 HA の抗アポトーシス活性の検討
- ・上記モデルにおける、FGF1 との共投与による抗アポトーシス活性の検討
- ・上記モデルを用いて、硫酸化 HA の防護能及び硫酸化レベルの違いによる影響の検討

### 4. 研究成果

#### (1) 硫酸化ヒアルロン酸の FGF1 への結合能および血液抗凝固能について

ヒアルロン酸はヘパリンと似た構造を持つ糖鎖であり、硫酸化することで FGF2 と相互作用することが知られている。そこでまず、硫酸化 HA を化学的に合成し、FGF1 への結合能および血液抗凝固能を検討した。その結果、高硫酸化ヒアルロン酸はヘパリンと同程度に FGF1 への結合能を示すこと、また、硫酸化ヒアルロン酸の血液抗凝固作用はヘパリンよりも非常に弱いこと、ヒアルロン酸および硫酸化ヒアルロン酸は抗凝固因子 (AT-3) を活性化しないことが明らかとなった。以上により、FGF を用いた治療において、高硫酸化ヒアルロン酸は出血の危険性が極めて低い糖鎖として、ヘパリンに代わる可能性を示した。

#### (2) FGF1 による細胞増殖活性への硫酸化ヒアルロン酸の影響について

in vitro において FGF1 による細胞増殖活性への影響を検討した結果、高硫酸化ヒアルロン酸がヘパリンと同程度の細胞増殖活性を示すことが明らかとなった。また、ガンマ線照射による腸管障害マウスモデルを用い、硫酸化ヒアルロン酸の抗アポトーシス活性を検討した結果、照射 24 時間前の硫酸化ヒアルロン酸投与によりアポトーシスが減少し、更に FGF1 との共投与によりさらに抗アポトーシス活性を示した。

#### (3) 放射線による腸管障害に対する硫酸化ヒアルロン酸の防護能及び硫酸化レベルの違いによる影響について

ガンマ線照射による腸管障害マウスモデルを用い、放射線による腸管障害に対する硫酸化ヒアルロン酸の防護能及び硫酸化レベルの違いによる影響をクリプトアッセイにより検討した。その結果、ガンマ線照射前または照射後の硫酸化ヒアルロン酸の投与により、腸管障害の軽減が

観察され、照射前投与については、FGF 1 と高硫酸化ヒアルロン酸の共投与によりヘパリンと同程度の腸管障害防護能が示された。

以上の結果から、高硫酸化ヒアルロン酸は他のグリコサミノグリカンに比べて含水能力が高いだけでなく、出血のリスクも低く、FGF などのシグナルカスケードを活性化することが明らかになった。したがって、高硫酸化ヒアルロン酸は急性放射線障害に対する治療に有効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1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Miura Taichi, Kawano Mitsuko, Takahashi Keiko, Yuasa Noriyuki, Habu Masato, Kimura Fumie, Imamura Toru, Nakayama Fumiaki | 4. 巻<br>7                     |
| 2. 論文標題<br>High-Sulfated Hyaluronic Acid Ameliorates Radiation-Induced Intestinal Damage Without Blood Anticoagulation             | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>Advances in Radiation Oncology   | 6. 最初と最後の頁<br>100900 ~ 100900 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1016/j.adro.2022.100900  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-                     |

〔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<br>三浦 太一, 川野 光子, 高橋 慶子, 湯浅 徳行, 羽生 正人, 松崎 祐二, 今村 亨, 中山 文明 |
| 2. 発表標題<br>高硫酸化ヒアルロン酸は放射線から腸を防護し再生を促進する                          |
| 3. 学会等名<br>日本放射線影響学会 第63回大会                                      |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>三浦 太一, 川野 光子, 高橋 慶子, 湯浅 徳行, 羽生 正人, 松崎 祐二, 中山 文明 |
| 2. 発表標題<br>高硫酸化ヒアルロン酸は放射線腸管障害の再生を促進する                      |
| 3. 学会等名<br>第20回日本再生医療学会総会                                  |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>三浦 太一, 川野 光子, 高橋 慶子, 湯浅 徳行, 羽生 正人, 木村 史枝, 松崎 祐二, 中山 文明 |
| 2. 発表標題<br>放射線腸管障害に対する高硫酸化ヒアルロン酸の治療効果                             |
| 3. 学会等名<br>第94回日本生化学会大会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>三浦 太一, 川野 光子, 高橋 慶子, 湯浅 徳行, 羽生 正人, 木村 史枝, 松崎 祐二, 中山 文明 |
| 2. 発表標題<br>高硫酸化ヒアルロン酸はヘパリンと同程度のFGF1への結合能を有するが血液抗凝固作用を有していない       |
| 3. 学会等名<br>第44回日本分子生物学会年会   |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>三浦 太一, 川野 光子, 湯浅 徳行, 羽生 正人, 木村 史枝, 松崎 祐二, 中山 文明        |
| 2. 発表標題<br>高硫酸化ヒアルロン酸はヘパリンとは異なり血液抗凝固能を有していないが、FGF1に対する強い結合能を有している |
| 3. 学会等名<br>第95回日本生化学会大会   |
| 4. 発表年<br>2022年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|               | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                         | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)   | 備考 |
|---------------|---|---|----|
| 研究<br>分担<br>者 | 中山 文明<br><br>(Nakayama Fumiaki)<br><br>(50277323) | 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学研究所 放射線規制科学研究部・専門業務員<br><br><br>(82502) |    |

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 |
|---------|---------|