

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2008 ~ 2009
 課題番号： 20710042
 研究課題名 (和文) 放射線宿酔発症における脳内腫瘍壊死因子の動態解析とその役割の解明
 研究課題名 (英文) The role of Tumor Necrosis Factor- α in the development of radiation sickness
 研究代表者
 山本 浩一 (YAMAMOTO KOUICHI)
 大阪大学・大学院医学系研究科・助教
 研究者番号： 40362694

研究成果の概要 (和文)：

放射線や化学療法で生じる宿酔には脳内で産生する炎症性サイトカイン (IL-1 β 、TNF- α 、COX-2) が関与すると考え、いずれのサイトカインが重要か検討した。ドセタキセル、シクロホスファミド投与によりラットは宿酔を発症したが、COX-2 はドセタキセルのみで発現し、シクロホスファミドでは TNF- α が発現した。実際、COX-2 阻害剤はドセタキセルによる宿酔のみ抑制した。以上の結果から、脳内でドセタキセルには COX-2 が、シクロホスファミドには TNF- α が、発症に関与していることが示唆された。

研究成果の概要 (英文)：

We found docetaxel and cyclophosphamide induced fatigue in rats, but COX-2 inhibitor efficiently inhibited only docetaxel-induced fatigue. Although COX-2 was increased by docetaxel, not COX-2 but TNF- α was significantly increased by cyclophosphamide. These results suggested that fatigue by docetaxel and cyclophosphamide was attributed etiologically to COX-2, and TNF- α , respectively.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2009 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：環境学・放射線・化学物質影響化学

キーワード：倦怠感、放射線、抗がん剤、ラット、グルタミン酸、腫瘍壊死因子- α 、シクロオキシゲナーゼ

1. 研究開始当初の背景

治療が困難だと考えられていた白血病は「骨髄移植」により治癒することが可能となってきた。骨髄移植は移植に先だち患者さんの骨髄細胞の涸渇と免疫抑制を目的に「全身照射」もしくは「抗がん剤大量投与」が行われるが、これらの治療法によって、多くの患者さんには様々な有害作用も現れ、中でも食欲不振、発熱や倦怠感で代表される「宿酔」症状を経験することになる。これらの症状は主観的なものが多いため患者さん本人にとっては非常に辛い状態ではあるが、医療職者を含む他者に理解を得にくく、実際には患者さんが苦痛を訴えても適切な処置がされないまま治療が進行されることが多い。これまでの基礎および臨床研究から、放射線によって上部消化管から遊離したセロトニン(5-HT)が迷走神経終末の5-HT₃受容体を介して延髄に伝達されることで嘔吐が発症するため、本邦でも5-HT₃受容体遮断薬のグラニセトロン(商品名:カイトリル)が宿酔の予防薬として保険適用を受けている。しかし、この薬物は嘔吐に対しては抑制効果があるものの、悪心や食欲不振、疲労感に対しては効果がほとんどないと報告がある。ところで、感染や炎症に伴って単球やマクロファージで産生される腫瘍壊死因子(TNF)- α やインターロイキン(IL)-1 β などサイトカインが発熱や倦怠感を惹起することが知られている。放射線宿酔の病態生理機構には①迷走神経求心路終末の5-HT₃受容体を介して嘔吐を発症する経路に加え、②中枢神経系においてグルタミン酸などの興奮性情報伝達系を介して視床下部を興奮させ、悪心や食欲不振、疲労感を発症する経路の独立した2つの機構が存在すると考えた。特に、抗炎症作用を有する薬物に悪心や食欲不振を抑制する作用があるため、炎症性サイトカインなど炎症に関与する機構が起因している可能性があると考えた。

2. 研究の目的

そこで、抗がん剤投与・放射線照射後に現れる摂餌行動変化と体温・自発行動量を継続的にモニターし、さらに視床下部・延髄で産生されたTNF- α の産生・分泌動態病態をRT-PCR法を用いて経時的に測定することで、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、シクロオキシゲナーゼ

(COX)-2が宿酔症状の発症にどのような役割を担っているのかについて詳細に検討する目的で、本研究を計画した。

3. 研究の方法

(1) 宿酔発症に起因する炎症性サイトカインの同定

いずれのサイトカインが宿酔発症時に重要であるかを検討するため、ラットにドセタキセル(10mg/kg)・シクロホスファミド

(60mg/kg)投与後1、3、6、12、18、24時間後に延髄・視床下部を摘出し、組織中でのTNF- α 、IL-1 β 、COX-2 mRNA発現レベルの経時変化をRT-PCR法を用いて解析した。

(2) 宿酔発症と体温・自発行動量・摂餌量の変化との関連

ドセタキセル(10mg/kg)・シクロホスファミド(60mg/kg)投与後の体温、行動量、摂餌量の変化に着目し、これら生体反応をバイオテレメトリー法を用いて計測した。また、この症状に対して、選択的COX-2阻害剤がどのような作用を有するかを検討した。

(3) プロスタグランジンE₂産生動態の解析

プロスタグランジンE₂が宿酔発症時に実際に増加するか否か、マイクロダイアリシス法とELISAを組み合わせて実験を試みた。マイクロダイアリシス法とは、ラット視床下部内に先端が半透膜構造を有する微小透析プローブを刺入し、その内部を人工脳脊髄液を灌流させることで、脳内の情報伝達物質を回収して動態解析する方法である。

(4) 嘔吐発症におけるグルタミン酸の役割
嘔吐反射のある *Suncus Murinus* の脳内にダイアリシスプローブを刺入し、自由行動下で経時的にグルタミン酸遊離を測定しながら、抗癌剤を用いて嘔吐を惹起させ、グルタミン酸遊離が嘔吐反射に必要なのか否かについて検討した。

4. 研究成果

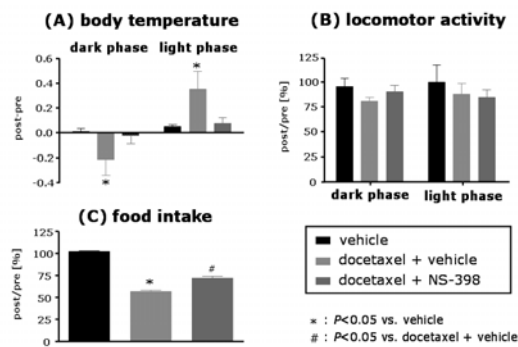
(1) 宿酔発症に起因する炎症性サイトカインの同定

ドセタキセル投与後の視床下部において、薬剤投与6時間後にCOX-2 mRNA発現量は増加傾向を示したが、TNF- α 、IL-1 β mRNAは変化が認められなかった。一方、シクロホスファミド投与では、COX-2、IL-1 β mRNA発現量に変化はなく、投与6時間後の視床下部においてTNF- α mRNAの有意な発現増加が見られた。

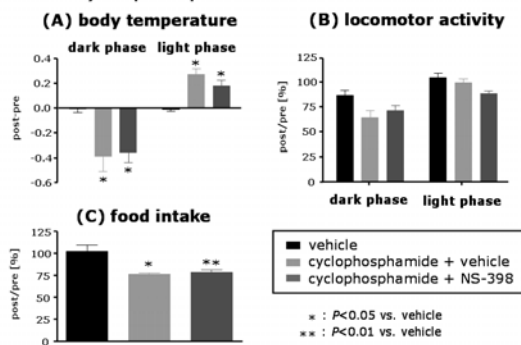
(2) 宿酔発症と体温・自発行動量・摂餌量の変化との関連

ドセタキセルならびにシクロホスファミド投与によりラットには摂餌量減少・体温変化・自発行動量の減少が認められたが、選択的COX-2阻害剤のNS-398はドセタキセルによる体温・自発行動量・摂餌量の変化に対してのみ抑制効果を示した。

Effects of NS-398 on docetaxel-induced CRF



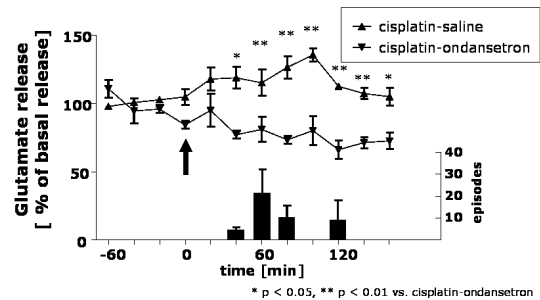
Effects of NS-398 on cyclophosphamide-induced CRF



(3) プロスタグランジンE₂産生動態の解析

自由行動下のラット視床下部内のプロスタグランジンE₂が抗がん剤投与によって実際に増加するか否か、マイクロダイアリシス法とELISAを組み合わせて実験を試みた。その結果、宿酔症状が生じる時間帯にプロスタグランジンE₂が増加する傾向が見られた。

(4) 嘔吐発症におけるグルタミン酸の役割
抗がん剤投与によって *Suncus Murinus* が嘔吐をしている時間帯には視床下部グルタミン酸遊離量は有意に増加しており、また制吐剤を前投与することによって嘔吐反射ならびにグルタミン酸遊離増加を抑制することができた。



以上の結果から、視床下部において、宿酔症状発症にはCOX-2とTNF- α の発現増加とプロスタグランジンE₂の産生増加が深く関与していること、さらに嘔吐の反射には脳内グルタミン酸の遊離増加が関与することを明らかにした。

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2件)

- ① Yamamoto K, Asano K, Matsukawa N, Imaizumi M, Yamatodani A, Time-course analysis of pica in rats using an automatic feeding monitoring system, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 査読有, 2010, in press
- ② Yamamoto K, Chan SW, Rudd JA, Lin G, Asano K, Yamatodani A. Involvement of hypothalamic glutamate in cisplatin-induced emesis in *Suncus murinus* (house musk shrew). Journal of Pharmacological Sciences, 査読有, 2009, 109号4巻631-634.

[学会発表] (計3件)

- ① 浅野景子、山本浩一、大和谷 厚、The role of brain cytokines in cancer-related fatigue, 第83回日本薬理学会年会, 大阪, 2010年3月15日
- ② Yamamoto K, Chan SW, Rudd JA, Asano K,

Yamatodani A. Effect of cisplatin on the hypothalamic glutamate release and emetic response in *Suncus murinus*.
20th Multinational Association of Supportive Care in Cancer
International Symposium, Roma, Italy,
2009年6月22日

- ③ 浅野景子、山本浩一、大和谷 厚、Effects of cyclooxygenase inhibitors on the docetaxel induced anorexia in rats, 第82回日本薬理学会年会, 横浜 2009年3月13日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山本 浩一 (YAMAMOTO KOUICHI)
大阪大学・大学院医学系研究科・助教
研究者番号：40362694

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし