

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659553

研究課題名(和文)国内承認医薬品に新たな急性放射線障害治療プロトコールを見出す！

研究課題名(英文)Protective effects of a combination of multiple pharmaceutical drugs on the survival of mice exposed to lethal ionizing radiation

研究代表者

柏倉 幾郎 (Kashiwakura, Ikuo)

弘前大学・保健学研究科・教授

研究者番号：00177370

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円、(間接経費) 840,000円

研究成果の概要(和文)：線7Gy全身照射マウスの約10%が27日間生存後、30日目には全て死亡する。この放射線曝露マウスに、国内承認薬である顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、エリスロポエチン(EPO)、ロミプロスチム(RP)及び蛋白同化ステロイドであるナンドロロンデカン酸エステル(ND)の組み合わせ投与を検討した。

その結果、ND投与を1回または2回にG-CSF+EPO+RPの組み合わせを照射後3日間もしくは、G-CSF+EPO+RPの組み合わせを5日間投与する事で、30日生存率は100%となった。

本研究から、国内承認品の組み合わせによりARSに対する有効な薬物治療が可能である事が示唆された。

研究成果の概要(英文)： Different combinations of four drugs - recombinant human erythropoietin (EPO), granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF), c-mpl receptor agonist romiplostim (RP) and nandrolone decanoate (ND)- was administered to mice within 2 h after exposure to a lethal 7 Gy dose of gamma-irradiation. Approximately 10% of the untreated irradiated control mice survived for 27 days, but all of the control mice died by day 30. The combined administration of G-CSF, EPO and RP for three days immediately after irradiation led to a complete survival of the irradiated mice until day 30. However, the treatment with G-CSF and EPO with ND led to only 75% survival at day 30. The hematological analyses showed that the numbers of almost all of hematopoietic cells in the surviving mice treated with effective medications recovered to the levels of non-irradiated mice. The present findings show that the combination of G-CSF, EPO and RP may be a useful countermeasure for victims exposed to accidental lethal irradiation.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：医薬品 全身照射 急性放射線症候群 romiplostim

1. 研究開始当初の背景

急性放射線障害 (ARS) では、放射線感受性の高い骨髄や腸管障害により致死に至る。その為高線量被ばく事故時では、造血機能再生を目的に造血幹細胞移植が効果的である事がこれまでの事故例で示されているが、腸管粘膜や皮膚への効果は期待できない。また、数十人から数百人規模の患者が発生した場合には、速やかな対応という点から造血幹細胞移植は不適當であり、初期治療としては薬物治療が最も迅速に対応できる。しかしながら、過去の事故例で効果的であった主に造血・免疫に関与する生理活性因子であるサイトカインのほとんどは国内での保険適用医薬品ではないため、緊急時の対応に必須な常備性、安定的な供給性といった点からは問題がある。ARS における対応に関して、国際原子力機関 (IAEA) の Diagnosis and Treatment of Radiation Injuries (Safety Reports Series 2) において、中程度~重度被ばくの場合は G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) もしくは GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating) の投与、深刻な被ばくもしくは致死線量の場合は IL-3 (interleukin-3) 及び GM-CSF という各種サイトカインと共に骨髄移植を推奨している。このうち G-CSF のみが国内で承認された医薬品であるが、単独投与では致死線量被ばく個体の生存効果は困難である。しかしながら、新たな医薬品開発には多額の費用と時間と共に大きなリスクを伴う。一方、既に臨床応用されている医薬品はヒトに対する毒性試験等の基本的な検討は終えており、国内承認医薬品の中から新たな放射線障害軽減・防護機能を有する医薬品もしくは至適なプロトコールを見出すことが出来れば、現在日本国民が直面する東京電力福島第一原子力発電所事故収拾過程への備えになるばかりでなく、今後の新たな脅威に向けた安心・安全対策に繋がる。

申請者らはこれまでヒト造血幹細胞の放

射線感受性と主に造血・免疫に関与する生理活性因子であるサイトカインの作用について検討し、多くの成果を挙げて来た¹⁻⁸⁾。申請者らが培ってきた造血幹細胞の評価系を駆使することで、本課題解決につながると考えるに至った。

- 1) I. Kashiwakura *et al.* *Radiat. Res.* in press,
- 2) I. Kashiwakura *et al.* *ibid.* 176:8-16 (2011),
- 3) I. Kashiwakura *et al.* *ibid.* 174: 177-184 (2010),
- 4) I. Kashiwakura *et al.* *ibid.* 173:184-90 (2010),
- 5) I. Kashiwakura *et al.* *Life Sciences*, 84: 598-605 (2009),
- 6) I. Kashiwakura *et al.* *Radiat. Res.* 167: 563-71 (2007),
- 7) I. Kashiwakura *et al.* *ibid.* 172:314-20 (2009),
- 8) I. Kashiwakura *et al.* *ibid.* 173:184-90 (2010).

2. 研究の目的

本研究は、現在臨床応用されている国内承認医薬品やその効果的な組合せにより、放射線曝露個体の治療特に造血・免疫機能再生と消化管治療に最適なプロトコールをマウスモデルで確立する事を目的としている。この目的達成のため平成 24 年度と平成 25 年度の 2 年間で次の 3 課題を検討し、放射線曝露後の障害軽減効果をもたらす効果的な防護プロトコールの探索を目指す。検討課題 1: In vivo 実験による候補医薬品のスクリーニング 検討課題 2: 放射線防護効果の作用機序 検討課題 3: 放射線防護効果の遺伝子レベルでの解析。

3. 研究の方法

¹³⁷Cs g 線 7~9 Gy 全身照射マウスに被検薬を投与し、経時的に死亡個体の観察と共に、30~100 日生存マウスの体重変化、末梢血球数、骨髄細胞中の造血前駆細胞数、腸管障害等の解析からその効果を検証する。医薬品は全て保険適用の臨床薬とし、それらの単回単回もしくは連続投与、さらには幾つかの医薬品の混合単回もしくは連続投与を試みる。マウスへの照射実験を含め一連の実験はマウスの飼育管理に高度な施設設備を有する環

境科学技術研究所(青森県六ヶ所村)で行う。生存効果が見られた薬剤もしくは至適コンビネーションの作用機序は、造血組織である骨髄や消化管粘膜を中心に、病理組織学的解析、細胞性生物学、分子生物学的アプローチから評価する。放射線防護効果の遺伝子レベルでの解析を行う目的は、候補医薬品の投与により効果が認められた場合であっても、遺伝子レベルでの影響は無視できない。そこで、応答遺伝子の多面的な解析に加え、長期飼育過程における白血病発症等がん発症に関する観察を行う。

4. 研究成果

γ 線 7 Gy 全身照射マウスの約 10%が 27 日間生存後、30 日目には全て死亡する。こうした放射線曝露マウスに、国内承認薬である顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF, 100 μ g/kg), エリスロポエチン (EPO, 100 μ g/kg), 特発性血小板減少性紫斑病治療薬 (トロンボポエチン受容体作動薬) であるロミプロスチム (RP, 50 μ g/kg) 及び蛋白同化ステロイドであるナンドロロンデカン酸エステル (ND, 50 μ mol/kg) の組み合わせ投与を検討した。

その結果、ND 投与を 1 回または 2 回に G-CSF + EPO + RP の組み合わせを照射後 3 日間もしくは、G-CSF + EPO + RP の組み合わせを 5 日間投与する事で、30 日生存率は 100% となった (Fig.1A, B)。一方、生存個体の末梢血、骨髄細胞数及び骨髄細胞中の造血前駆細胞数にはコントロールとの間に有意な差は認められなかった。また、ND 投与を 1 回に G-CSF + EPO + RP の組み合わせを照射後 3 日間投与した個体を 100 日まで観察したところ、末梢血中の赤血球数、白血球数、血小板数は依然として非照射コントロールに比べて有意に低下したままであったが、骨髄細胞数及び骨髄細胞中の造血前駆細胞数は照射前のレベルに回復している事が確認された。

本研究から、国内承認品の組み合わせによ

り ARS に対する有効な薬物治療が可能である事が示唆された。

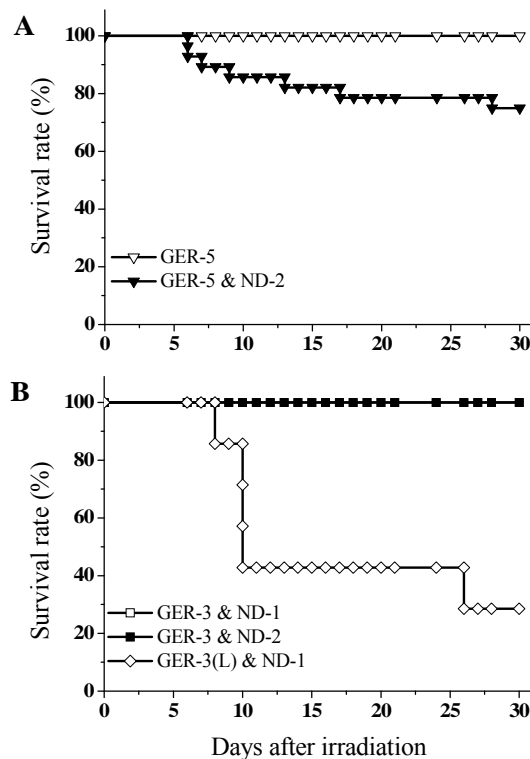


Fig.1. 放射線曝露個体の生存曲線

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)

M. Yamaguchi, T. Hirouchi, M. Nakano, S. Monzen, H. Yoshino, M. Chiba, J. Ishikawa, A. Nishiyama, S. Murakami, K. Ito and I. Kashiwakura. Long-lasting radioprotective effects of a combination of pharmaceutical drugs on the survival of mice exposed to lethal ionizing radiation. *Radiat. Emerg. Med.*, 3(1): 50–55 (2014), 査読有。

M. Yamaguchi and I. Kashiwakura. Mitochondrial involvement in the radiation response of human hematopoietic stem cells. *c* 8(7):e70503 (2013), 査読有。

[学会発表](計 2 件)

石川純也, 廣内篤久, 伊藤巧一, 千葉満, 中野学, 門前暁, 吉野浩教, 羽澤勝治, 中野光, 山口平, 田中公夫, 柏倉幾郎. 致死線量放射線ばく露マウスに対する C-Mpl 作動薬の作用. 日本放射線影響学会第 56 回大会, (2013 年 10 月 18 日, 青森市). 村上翔, 廣内篤久, 石川純也, 山口平, 柏倉幾郎. 放射線曝露個体におけるマスト細胞への分化・増殖能の変化. 日本放射線影響学会第 56 回大会 (2013 年 10 月 18 日,

青森市).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：放射線被ばく治療剤及び放射線被ばく治療方法

発明者：柏倉幾郎，伊藤巧一，中野学，門前暁，千葉満，吉野浩教，廣内篤久

権利者：弘前大学

種類：用法特許

番号：特願 2012 - 250880

出願年月日：平成 24 年 11 月 15 日

国内外の別：国内

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.hs.hirosaki-u.ac.jp/~kashiwakura/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柏倉 幾郎 (KASHIWAKURA Ikuo)

弘前大学・保健学研究科・教授

研究者番号： 00177370

(2) 研究分担者

門前 暁 (MONZEN Satoru)

弘前大学・保健学研究科・助教

研究者番号： 20514136

吉野 浩教 (YOSHINO Hironori)

弘前大学・保健学研究科・助教

研究者番号： 10583734

(3) 連携研究者

伊藤 巧一 (Ito Koichi)

弘前大学・保健学研究科・教授

研究者番号： 90398579