

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860106

研究課題名(和文) パルブロ酸による放射線誘発口腔粘膜炎症軽減作用の検討

研究課題名(英文) Effect of valproic acid on radiation-induced oral mucositis

研究代表者

田中 亮裕 (TANAKA, AKIHIRO)

愛媛大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：50527562

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：がん放射線治療の副作用の一つである口腔粘膜炎症は頭頸部放射線療法時の殆どに発症し、口腔内から咽頭に至るまで重篤な粘膜障害を引き起こす。しかし、現在のところ有効な治療薬剤はない。今回、抗てんかん薬であり、かつHDAC阻害のあるパルブロ酸ナトリウムは放射線誘発口腔粘膜障害に対して有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Oral mucositis, a side effect of cancer radiotherapy, occurs primarily during head and neck radiotherapy, causing severe mucosal damage from the oral cavity to the pharynx. However, there is currently no effective therapeutic agent. In our study, it was suggested that sodium valproate as an antiepileptic drug and having HDAC inhibition may be useful for radiation induced oral mucosal disorders.

研究分野：医療薬学

キーワード：放射線誘発口腔粘膜障害

1. 研究開始当初の背景

がん放射線治療は、臓器あるいは感覚器などの機能・形態を維持することが可能で、がん根治療法としての役割が増大している。一方、副作用の一つである口腔粘膜炎症は頭頸部放射線療法時の殆どに発症し、口腔内から咽頭に至るまで重篤な粘膜障害を引き起こす。しかし、現在のところ有効な治療薬剤はなく、臨床では局所麻酔や鎮痛・抗炎症薬による対症療法が行われているに過ぎないことから、口腔粘膜炎症用薬の開発・開拓が望まれている。

2. 研究の目的

近年、ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)を阻害することが報告されているバルプロ酸は、抗腫瘍効果および放射線によるDNAの損傷を改善するとの報告もある。すなわち、放射線治療時にバルプロ酸を併用すると、後天的な遺伝子への作用(エピジェネティクスなはたらき)により抗腫瘍効果とともに放射線による副作用の軽減も期待される。そこで、今回の検討ではバルプロ酸による放射線誘発口腔粘膜炎症軽減作用の機序、放射線治療への影響(抗腫瘍効果への影響)を評価し、臨床応用を目指す。

3. 研究の方法

(1)動物モデルを用いて全身投与によるバルプロ酸ナトリウムの作用を検討した。ハムスターのチークポーチにX線30Gyを単回照射することにより、放射線誘発口腔粘膜炎症モデルの作製を行った。バルプロ酸ナトリウムは放射線照射30分後に腹腔内投与した。粘膜の充血や潰瘍化などを指標とした0~5の6段階での肉眼的口腔粘膜炎症スコアによる評価とともに、H&E染色による組織学的評価、細胞増殖マーカーの一つであるMinichromosome maintenance protein 4 (MCM4)免疫染色を実施した。また、放射線照射後8および14日目にチークポーチのサンプリングを行い、全般的な炎症の指標として好中球ミエロペルオキシダーゼ(MPO)活性を測定した。その他の項目としてアセチル化ヒストンH3,H4の定量、リアルタイムPCR法によるTGF- β 、NF- κ B、 β -catenin、Wnt1、Smad7の発現量を評価した。

(2)上記(1)と同様の動物モデルを用いて局所投与によるバルプロ酸ナトリウムの作用を検討した。バルプロ酸ナトリウムおよびHDAC阻害活性を有しないバルプロ酸のアナログであるバルプロミドを放射線照射当日より連日頬袋内へ投与した。投与量はいずれも30mg/siteとし、溶媒にはヒドロキシプロピルセルロースを用いた。粘膜炎症の程度は肉眼的口腔粘膜炎症スコアにより評価した。

(3)バルプロ酸ナトリウム投与により放射線照射による抗腫瘍効果に悪影響が出ないことを確認するために、ヒト扁平上皮がん細胞(SAS, HSC2, HSC3, HSC4)を用いて細胞生存率を評価した。バルプロ酸ナトリウム濃度については0.5mM~10mMの濃度で基礎検討を行い、濃度は1mMおよび5mMに設定した。扁平上皮がん細胞に放射線照射(2, 4, 6, 8および10Gy)を行い、バルプロ酸ナトリウム1nMおよび5mM添加時の細胞生存率を検討した。

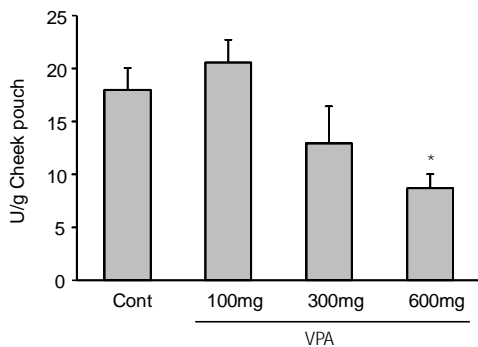
(4)愛媛大学医学部附属病院歯科口腔外科の協力を得て自主臨床試験「放射線性口内炎治療薬としてのバルプロ酸ナトリウムの安全性に関するオープン試験」を実施した。概要はバルプロ酸ナトリウム1200mgを1日2回に分けて内服し、血中濃度40 μ g/mL~120 μ g/mL(てんかんの有効血中濃度を参照)が維持されるように適宜増減した。副作用の確認としては血液学的検査(赤血球数、白血球数、血小板数、ヘモグロビン)、血液生化学的検査(AST、ALT、GTP、LDH、総ビリルビン、ナトリウム、クレアチニン)を行った。また、局所投与での評価については「放射線性口内炎に対するバルプロ酸ナトリウム含嗽剤の安全性・有効性に関する非対照、オープンラベル第I相試験」を実施することとした。実施方法としては1日4回毎食後および放射線照射前にバルプロ酸ナトリウム含嗽を行い、全身への移行がないか血中濃度をモニタリングした。また、全身投与時の副作用に加えて局所での副作用(口腔内刺激感等)がないかどうか確認した。

4. 研究成果

(1)バルプロ酸ナトリウム600mg/kg投与群では肉眼的スコアの軽減を認めるとともに、放射線照射後8日目および14日目のH&E染色像では粘膜下の炎症性細胞の浸潤や粘膜上皮の破たんがバルプロ酸ナトリウム600mg/kg投与群では顕著に軽減していた。MCM4免疫染色像からは、バルプロ酸ナトリウム投与群では粘膜上皮組織の陽性細胞が多く観察され、粘膜上皮増殖機能が維持されていることが明らかとなった。ヒストンH3およびH4のアセチル化を測定したところ、バルプロ酸ナトリウム投与群では投与後2時間よりヒストンのアセチル化が開始していることが確認され、48時間後においても維持されていた。一方、バルプロ酸投与後の組織中バルプロ酸濃度は投与3時間後には半減し、12時間後には検出限界以下であった。このことから、バルプロ酸単回投与においてもヒストンのアセチル化は長時間維持され、口腔粘膜炎症の改善に寄与していることが示唆された。リアルタイムPCR法により各種遺伝子発現を測定したところ、投与後14日目のTGF-

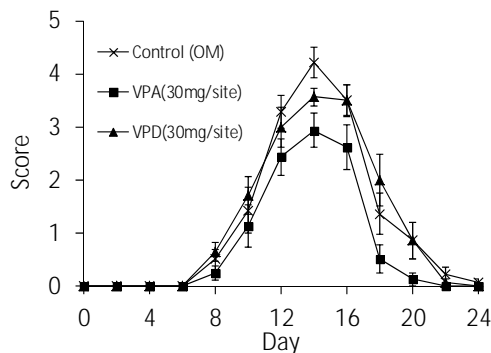
の発現量がバルプロ酸投与群では有意に低下していた。また、 β -catenin の発現量はバルプロ酸投与後 8 日目および 14 日目いずれも上昇していた。放射線による組織のアポトーシスを軽減しつつも粘膜上皮増殖を促進していることが示唆された。

放射線誘発口内炎に対するVPAの効果(MPO活性)



(2)バルプロ酸ナトリウムの局所投与により粘膜炎スコアは軽減し、総スコアおよびスコア 3 以上の日数の割合を有意に改善した。これらの作用はバルプロミドでは見られなかったことから、バルプロ酸ナトリウムによる口腔粘膜炎改善作用は HDAC 阻害作用によるものであることが明らかとなった。

放射線誘発口内炎に対するVPAの効果(局所)



(3)扁平上皮がん細胞 (SAS, HSC2, HSC3, HSC4) に放射線照射を行い、バルプロ酸ナトリウム 1nM および 5mM 添加時の細胞生存率を検討したところ、バルプロ酸ナトリウムはいずれの細胞株においても濃度依存的に放射線増感作用を示した。以上より、バルプロ酸ナトリウムは腫瘍細胞に対して悪影響を及ぼすことなく放射線誘発口内炎を軽減する可能性が示唆された。

(4)「放射線性口内炎治療薬としてのバルプロ酸ナトリウムの安全性に関するオープン試験」を、口腔がん治療として放射線療法あるいは化学放射線療法を受ける患者を対象として 2 例実施した。1 例はバルプロ酸ナトリウムとの因果関係が不明なせん妄および誤嚥性肺炎を発症したことから放射

線治療中断となり、もう 1 例はバルプロ酸ナトリウムとの因果関係が不明な肝機能上昇 (他の被疑薬: ミノサイクリン、アセトアミノフェン) を示したためバルプロ酸ナトリウムの服用を中止した。これらの結果は予測不可能な有害事象ではなかったものの、より安全に投与できる経路として局所投与 (含嗽) が望ましいと考え、「放射線性口内炎に対するバルプロ酸ナトリウム含嗽剤の安全性・有効性に関する非対照、オープンラベル第 1 相試験」を実施することとした。現在、2 名の患者がエントリーされたが、目立った有害事象は無く治療は遂行された。

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)

Noriko Nakajima, Shinichi Watanabe, Takeshi Kiyoi, Akihiro Tanaka, Katsuya Suemaru, Hiroaki Araki
Evaluation of edaravone against radiation-induced oral mucositis in mice
Journal of Pharmacological Sciences 127, 339-343 (2015). 査読有

Shinichi Watanabe, Katsuya Suemaru, Miki Nakanishi, Noriko Nakajima, Mamoru Tanaka, Akihiro Tanaka, Hiroaki Araki
Assessment of the hamster cheek pouch as a model for radiation-induced oral mucositis, and evaluation of the protective effects of keratinocyte growth factor using this model.
International Journal of Radiation Biology 90, 884-891 (2014). 査読有

〔学会発表〕(計 5 件)

渡邊真一, 濟川聡美, 山下 登, 田中亮裕, 荒木博陽
デキサメタゾンの局所投与は放射線誘発口腔粘膜炎を増悪させる
第 69 回日本薬理学会西南部会 2016 年 11 月
松山大学 愛媛県松山市

濟川聡美, 渡邊真一, 田中亮裕, 荒木博陽
放射線誘発口腔粘膜炎モデル動物に対するヒト塩基性線維芽細胞増殖因子の効果
第 69 回日本薬理学会西南部会 2016 年 11 月
松山大学 愛媛県松山市

渡邊真一, 濟川聡美, 山下 登, 田中亮裕, 荒木博陽
放射線誘発口腔粘膜炎モデルの組織スコアリング法と評価

第1回日本がんサポーターケア学会学術集会 2016年9月
東京慈恵会医科大学 東京都港区

渡邊真一, 濟川聡美, 山下 登, 田中亮裕, 荒木博陽
がん治療に伴う口内炎対策の現状と課題
第26回日本医療薬学会年会 2016年9月
京都国際会館 京都府京都市

渡邊真一, 濟川聡美, 田中亮裕, 荒木博陽
がん放射線療法によって誘発される口腔粘膜炎の病態と治療に関するアプローチ
第24回創薬・薬理フォーラム 2015年12月
岡山大学 岡山県岡山市

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 亮裕 (Tanaka, Akihiro)
愛媛大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：50527562

(2) 研究分担者

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

渡邊 真一 (Watanabe shinichi)
愛媛大学・医学部附属病院・薬剤師
濟川 聡美 (Sumikawa Satomi)
愛媛大学・医学部附属病院・薬剤師