

指導教授氏名	指導役割
森田 学 印	研究の総括・総合的指導
印	
印	

学 位 論 文 要 旨  
 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

専攻分野 予防歯科学	身分 大学院生	氏名 宮井 久敬
<p>論文題名 Topical application of ointment containing 0.5% green tea catechins suppresses tongue oxidative stress in 5-fluorouracil administered rats          (5-FU 投与による舌の酸化ストレスに対する 0.5% 緑茶カテキン含有軟膏局所応用の効果)</p>		
<p>論文内容の要旨(2000字程度)</p> <p><b>【緒言】</b>          口腔粘膜炎は、がん化学療法中に現れる有害事象の一つであり、その発生率は約 40% である (Villa &amp; Sonis, 2015)。舌や頬粘膜に好発し、強い接触痛を認めるため、経口摂取の妨げとなり、がん化学療法中の中断を招くことがある。したがって、がん化学療法中の口腔粘膜炎の発生を予防することは、がん治療を円滑に進める上で重要である。口腔粘膜炎の発症には、酸化ストレスが関与する (Sonis, 2009)。抗がん剤の投与により組織中の活性酸素種が増加すると、Nuclear Factor-<math>\kappa</math>B (NF-<math>\kappa</math>B) などの核内転写因子が活性化され、Interleukin-1<math>\beta</math> (IL-1<math>\beta</math>) などの炎症性サイトカインを誘導することで、口腔粘膜炎が発生する。一方、カテキンは強い抗酸化作用を有する (Megan et al., 2011)。したがって、がん化学療法中の患者の口腔粘膜組織にカテキンを塗布すると、抗がん剤の投与により産生された酸化ストレスを抑制すると考えられる。本研究の目的は、5-フルオロウラシル (5-FU) 投与ラットの舌下面にカテキンを塗布し、舌組織中の酸化ストレスの抑制効果について検討することである。</p> <p><b>【方法】</b>          8 週齢 Wistar 系雄性ラット 28 匹を、「生理食塩水投与+ワセリン塗布群 (対照群)」、「5-FU 投与+ワセリン塗布群 (ワセリン群)」、「5-FU 投与+0.1%カテキン配合ワセリン塗布群 (0.1%カテキン群)」、「5-FU 投与+0.5%カテキン配合ワセリン塗布群 (0.5%カテキン群)」に分けた。毎日 1 回、5 日間連続して、腹腔内投与 (生理食塩水あるいは 5-FU) と舌下面への塗布 (ワセリン) を行った。実験期間終了後に採血し、舌を摘出した。血液については、自動血球計数器を用いて、白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、血小板数を評価した。一方、舌組織については、8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG : 酸化ストレスの指標)、NF-<math>\kappa</math>B、IL-1<math>\beta</math> の免疫染色を行い、陽性細胞率を求めた。カテキンの塗布効果を検証するために、舌下組織、舌中央組織、舌背組織の 8-OHdG 陽性細胞率を比較した。また、抗酸化転写因子である Nuclear factor erythroid 2-Related Factor (Nrf2) の核内移行を蛍光染色にて評価した。さらに、採取した舌組織を凍結破砕した後、RNA を抽出し、逆転写 PCR アレイを行い、舌組織中の酸化・抗酸化関連発現変動遺伝子について検索した。群間の比較には、t 検定または一元配置分散分析を用いた。なお、本実験は岡山大学動物実験委員会の承認 (OKU-2014423) を得て行われた。</p>		

**【結果】**

白血球数は、対照群に比べてワセリン群 ( $p=0.002$ )、0.5%カテキン群 ( $p=0.003$ ) では有意に少なかった。8-OHdG 陽性細胞率について、舌下組織では、ワセリン群は対照群と比べて有意に高く ( $p=0.015$ )、0.5%カテキン群はワセリン群と比べて有意に低かった ( $p=0.029$ )。一方、舌背組織では、ワセリン群は対照群と比べて有意に高かった ( $p=0.011$ ) が、0.5%カテキン群とワセリン群との間で有意な差はみられなかった。舌下組織の NF- $\kappa$ B と IL- $\beta$  陽性細胞率については、ワセリン群が対照群と比べて有意に高く (各々  $p=0.011$ ,  $p=0.001$ )、0.5%カテキン群がワセリン群と比べて有意に低かった (各々  $p=0.003$ ,  $p=0.014$ )。また、Nrf2 核内移行率は、0.5%カテキン群がワセリン群と比べて有意に高かった ( $p=0.001$ )。

舌組織中の酸化・抗酸化関連遺伝子について検索した結果、フェリチン重鎖 1、チオレドキシン 1、スーパーオキシドジスムターゼ 1、ペルオキシレドキシン 1、セレノプロテイン 1、ミオグロビン、カテプシン B1、グルタミン酸システインリガーゼ調整サブユニットといった抗酸化関連の遺伝子が、ワセリン群と比べて 0.5%カテキン群において 2 倍以上の発現比を認めた。

**【考察】**

5-FU 投与ラットの舌下組織では、8-OHdG、NF- $\kappa$ B、IL-1 $\beta$  陽性細胞数の増加を認めた。抗がん剤の腹腔内投与により、局所組織の酸化ストレスが上昇する (Chung et al., 2012)。また、酸化ストレスの上昇は NF- $\kappa$ B を活性化し、NF- $\kappa$ B は炎症誘発性核転写制御因子として炎症の促進に働く (Manish et al., 2014)。本研究において、5-FU の腹腔内投与により、舌組織中の酸化ストレスが上昇した。これにより NF- $\kappa$ B による炎症誘発がみられたと考えられる。

カテキンを塗布すると、酸化ストレスダメージが抑制される (Lawrence, 2009; Maruyama et al., 2010)。本研究において、カテキン塗布部位に限局して 8-OHdG の酸化ストレスの上昇が抑制された。また、Nrf2 の核内移行により、Nrf2 制御系の抗酸化因子が活性化される (Bai et al., 2017)。チオレドキシン 1 やスーパーオキシドジスムターゼ 1、ペルオキシレドキシン 1 は、抗酸化作用を及ぼす (Hansen et al., 2007; Saitoh et al., 1998)。以上より、カテキンを塗布すると、Nrf2 系抗酸化因子が活性化され、抗酸化関連発現変動遺伝子が活性化されたと示唆される。

**【結論】**

抗がん剤投与ラットにおいて、舌下組織への 0.5%カテキン配合ワセリンの塗布により、Nrf2 系抗酸化因子を活性化し、舌下組織中の酸化ストレスを抑制した。