

論文内容要旨

論文題目

ドキシソルビシン塩酸塩漏出性皮膚傷害に対する冷却および加温の効果

所属部門：分子疫学 部門

所属講座：生化学・分子生物学 講座

氏名： 小山 奈都子

【内容要旨】

【緒言】ドキシソルビシン塩酸塩 (DOX)は、血管外漏出時に皮膚組織の壊死を引き起こすことがあるため、壊死性抗がん剤に分類されており、患者の苦痛や入院期間の延長を引き起こす。抗がん剤漏出性皮膚傷害に対する治療としてステロイドの局所注射などとともに、局所の冷却および加温（罨法）も実施されている。DOX 漏出に対しては冷却が推奨されているが、その効果の機序に関する詳細は明らかになっていない。本研究では、好中球走化性に関わる C5a receptor (CD88), interleukin-8 receptor (IL-8RA)および、熱によって活性化される transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1)に着目し、DOX 漏出性皮膚傷害に対する罨法の効果と機序を検討し、がん化学療法における副作用軽減の一助とすることを目的とする。

【材料と方法】6週齢雄 BALB/c マウスを使用し、DOX 漏出性皮膚傷害の動物モデルを作製した。イソフルラン吸入麻酔下にて背側皮膚を除毛し、皮筋上の皮下組織に DOX 投与後、皮膚表面を3時間継続して冷却（18～20度）または加温（38～40度）したものを罨法群、何も行わないものを対照群として経時的に肉眼的および組織学的検討と、CD88, IL-8RA および TRPV1 の免疫組織化学的検討、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法による検討を行った。

【結果】肉眼的観察において、発赤やびらん、腫脹といった病変部の面積は対照群と比較し冷罨法群は有意に小さく、温罨法群は有意に大きかった。組織中の好中球数は、DOX 投与後3日目が最も多く、その後徐々に減少した。また、対照群と比較し冷罨法群では好中球数が有意に少なく、温罨法群では有意に多かった。CD88 および IL-8RA を発現している炎症細胞数は、すべての時期で冷罨法群が他群と比較して有意に少なく、温罨法群は1日目と14日目で対照群より有意に多かった。TRPV1 を発現している神経線維束数は、1日目、3日目および14日目で冷罨法群より温罨法群で有意に多く、3日目では対照群よりも冷罨法群で有意に少なかった。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法により、冷却と加温の双方に CD88, IL-8RA および TRPV1 の mRNA が検出された。

【考察】DOX 漏出性皮膚傷害に対する3時間の冷却は、CD88 と IL-8RA の発現を抑制することで好中球の組織浸潤を減少させて傷害を軽減し、また、TRPV1 の発現を抑制することで疼痛や組織傷害を軽減することが示唆された。3時間の加温は CD88 と IL-8RA の発現を増加させて好中球の組織浸潤を促進し、TRPV1 の発現を増加させて組織傷害を悪化させることが示唆された。好中球は傷害部位の治癒に欠かせないが、過剰な浸潤は炎症の長期化と更なる組織破壊と疼痛を惹起するため、その抑制には冷却が有効であることが示唆された。

平成 24年 1 月 20日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 小山 奈都子

論文題目： ドキソルビシン塩酸塩漏出性皮膚傷害に対する冷却および加温の効果

審査委員：主審査委員

藤井 順逸



副審査委員

吉岡 寿心



副審査委員

山川 光徳



審査終了日：平成 24年 1 月 16日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

抗がん剤であるドキソルビシン塩酸塩 (DOX) は、投与時に血管外漏出すると組織の壊死が起こることから、皮膚傷害を防ぐために冷却する事が推奨されている。しかし、冷却がどのような機序で効果を発揮するのかについては明らかになっていないため、本研究ではマウスの皮膚に DOX を注射して血管外漏出モデルを作製し、推奨されている罨法である冷却に加えて、加温の効果を検討する事で、その機序を解明する事を目的とした。

麻酔下に除毛した 6 週齢雄 BALB/c マウスの背側皮膚に DOX を注射した。実験モデルを確立するための条件設定として、投与量・投与場所 (皮筋上か皮筋下か)・罨法時間 (連続か断続か) についての検討をまず行い、14 日目まで肉眼的観察・組織学的検討・血管透過性の検討を行った。その結果に基づいて、それぞれ 25 匹を 1 実験群として、背側皮膚の 2 箇所 $1\mu\text{g}/\mu\text{l}$ DOX を $20\mu\text{l}$ ずつ皮下注射し、投与直後から 3 時間の冷却 (18~20 度) もしくは加温 (38~40 度) 罨法を施すモデルにて、詳細な解析を行った。腫脹については、DOX 投与後 14 日間では発毛のため同定が困難であったことから、7 日間まで計測した。さらに、炎症細胞の関与が示唆されていたので、好中球走化性に関わる因子として、C5a receptor (CD88) と interleukin-8 receptor (IL-8RA)、ならびに熱によって発現が制御される transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) についての免疫組織化学的検出を行った。その結果、対照群と比較して、冷罨法群では発赤・びらん・腫脹を示す病変部の面積は小さく、温罨法群では大きかった。好中球数は DOX 投与後 3 日目に最多となったが、冷罨法群では少なく、温罨法群ではむしろ多かった。CD88 と IL-8RA を発現する炎症細胞数は、冷罨法群では常に少なく、温罨法群では多かった。TRPV1 を発現している神経線維数についても、冷罨法群では少なく、温罨法群で多かった。

CD88 と IL-8RA を発現する炎症細胞が DOX による皮膚傷害に関わると考えられることから、冷罨法はこうした遺伝子の発現を抑制することで、傷害組織に浸潤する好中球を減少させる結果、DOX の傷害作用を軽減させる可能性が示唆された。しかし DOX が血管外露出したヒトでは 2 週間程度で著しい腫脹となって現れるが、マウスの場合には発毛のため 1 週間までの検討に留まり、腫脹の評価を行う病態モデルとしては改善の余地が認められた。

本研究により、DOX が血管外露出した場合の皮膚傷害に対して、冷罨法が有効に作用する機序について解明が進んだことから、本論文は博士 (医科学) の学位論文にふさわしいと判断された。

(1, 200字以内)