

論 文 内 容 要 旨

題 目 γ -tocotrienol prevents 5-FU-induced reactive oxygen species production in human oral keratinocytes through the stabilization of 5-FU-induced activation of Nrf2

γ -トコトリエノールは 5-FU により誘導される Nrf2 を安定化させることにより 5-FU による口腔粘膜上皮細胞の活性酸素産生を抑制する

著 者 高野栄之

内容要旨

癌化学療法によって引き起こされる口腔粘膜炎は口腔扁平上皮癌の治療においてみられる一般的な有害事象である。その発症機構として様々なメカニズムが提唱されているが、その中に活性酸素 (ROS) 産生の関与も報告されている。抗癌剤の一つである 5-fluorouracil (5-FU) は口腔扁平上皮癌の治療に用いられる代表的な薬剤であるが、口腔粘膜炎を生じさせる頻度の高い薬剤としても知られている。そこで今回私は、ヒト口腔粘膜上皮細胞 (RT7) を用いて、ビタミン E の一種であり、抗酸化作用を有する γ -トコトリエノール (γ -T3) が、5-FU 刺激によって誘導される ROS 産生の抑制を介して、口腔粘膜炎発症を予防する可能性について検討した。

RT7 細胞を 5-FU (10 μ g/ml) 単独で処理した場合、未処理細胞に比較して増殖抑制が著明に認められた。この増殖抑制は ROS スカベンジャーである N アセチルシステイン(NAC) によって改善したことから、細胞増殖抑制の機序として ROS の関与が示唆された。次に、より臨床応用しやすい抗酸化能をもつ薬剤として γ -T3 においても同様の検討を行った。NAC と同様、 γ -T3 (10 nM) の処理においても、5-FU による細胞増殖抑制は著明に改善された。

一方、ROS は転写因子である NF-E2-related factor 2 (Nrf2) を活性化させ、その抑制因子である Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) を抑制することが知られている。Nrf2 は通常、Keap1 と結合した状態で細胞質内に存在しているが、ROS 刺激により解離し核内に移行後、核内で Heme oxygenase-1(HO-1) や NAD(P)H quinone oxidoreductase-1 (NQO-1) などの抗酸化酵素を誘導する。Western blot 解析により、5-FU 処理 RT7 細胞においては 12 時間後に核内 Nrf2 の発現上昇が認められたものの、以下 24 時間後には低下していた。一方 γ -T3 併用下では 5-FU 処理 24 時間後においても Nrf2 発現は安定して核内に発現していた。また、間接免疫蛍光染色法を用いた解析においても Western blot と同様の結果が得られた。HO-1 および NQO-1 mRNA 発現を Real-time RT-PCR にて定量化したところ、5-FU 単独処理では 12 時間後に発現増強が認められたが、24 時間後には著しい発現低下がみられた。一方、 γ -T3 を併用することにより、両酵素 mRNA 発現は処理後 24 時間においても増強が認められた。

これらの結果より、RT7 細胞において γ -T3 は、5-FU 処理によって誘導される ROS 産生を持続して抑制することが明らかとなった。そしてこのメカニズムとして γ -T3 は、5-FU 誘導 ROS による Nrf2 の活性化を持続させることにより抗酸化酵素 HO-1, NQO-1 mRNA 発現の持続を介して ROS 産生を継続して低下させることにより、口腔粘膜上皮細胞の生存に寄与している可能性が示された。