

# ハスカップを用いたがん治療に伴う重篤な副作用、口内炎の治療法

板垣 史郎 [北海道大学大学院薬学研究院／助教]  
井関 健 [北海道大学大学院薬学研究院／教授]  
平野 剛 [北海道大学大学院薬学研究院／講師]  
山森 昭 [大高酵素株式会社]  
高橋 夏子 [北海道大学大学院医学研究科／博士研究員]

## 背景・目的

北海道を象徴する作物の一つに、ハスカップがある。ハスカップにはアントシアニンなどのポリフェノールが豊富に含まれており、抗酸化作用をはじめとして、様々な生理作用を示す。口内炎はがん治療において最も発症頻度の高い副作用であるが、その治療法には科学的根拠に乏しいものが多く、より有用な治療法の開発・実用化が切望されている。口内炎発症要因の一つに酸化障害がある。本研究ではハスカップポリフェノールの抗酸化作用に着目し、高い科学的根拠を有する口内炎治療法の確立に取り組む。

## 内容・方法

HO-1-N-1細胞の懸濁液を $1.0 \times 10^5$  cells/mLに調製し、6穴プレートに2 mL/well 播種した。翌日、 $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射の2時間前に試験化合物を培養液に溶解させて添加し、2時間経過後 $^{60}\text{Co}$  ガンマ線を16 Gy 照射した。 $^{60}\text{Co}$  ガンマ線照射は播種の24時間後に行うように調節した。その後、照射から24時間ごとに同濃度の薬液を交換した。照射から5日後に、0.5% MTT stock solution (滅菌 PBS に溶解) を培養液2000  $\mu\text{L}$  (2 mL) に対し200  $\mu\text{L}$  ずつ添加し、インキュベーター内で30分反応させた。反応後に、培養液を吸引除去し、DMSO を2 mL 加えて細胞を溶解させた。ピペッティングにより攪拌した後、96穴プレートに200  $\mu\text{L}$  ずつ移し、マイクロプレートリーダーにより、590 nm における吸光度を測定し、生成した MTT formazan の吸光度を求め、細胞生存率を算出した。

## 結果・成果

ヒト頬粘膜扁平上皮がん由来細胞株 HO-1-N-1細胞を用い、照射線量および経過時間に着目して放射線 ( $^{60}\text{Co}$  ガンマ線) 照射後の細胞生存率を MTT assay にて評価した。細胞生存率は照射線量依存的に、および照射後の経過時間に依存して低下することが示された。

続いて、構築した評価系を用いて国内で放射線照射に伴う口内炎の予防や軽減に汎用されている薬剤の効果を検証した。アルギン酸ナトリウムは粘膜保護作用、フィブリノリジン・デオキシリボヌクレアーゼ複合剤であるエレース®は創傷治癒促進作用、アズレンスルホン酸ナトリウムは創傷治癒促進作用ならびに抗炎症作用を有する。しかしながら、これらを添加した場合は、放射線

照射による細胞生存率の低下は抑制されなかった。

一方、抗酸化作用を有する N-アセチルシステイン (NAC) およびカテキン類を高濃度で長時間接触させた場合、細胞生存率の低下が有意に抑制され、放射線照射による細胞障害の予防・軽減に抗酸化物質を応用できる可能性が示唆された。いずれの化合物も、短時間の接触では障害抑制効果は確認できなかった。

ハスカップに含まれるポリフェノールのうち、Cyanidin-3-Glucoside Chloride (C3G) を用いて同様の検討を行ったところ、高濃度の C3G 存在下で放射線照射による細胞障害軽減効果が認められた。

現在は、2', 7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) 蛍光法による細胞内 ROS の直接測定、アポトーシスの要因の一つである DNA 断片化などの観点から、放射線照射に伴う細胞障害性の改善に関する検討を進めている。

## 今後の展望

今回、放射線照射に伴う口内炎を評価可能なモデルを開発することができた。今後は本モデルを用いて、細胞内 ROS 濃度、アポトーシスなどの観点からの評価を行ってゆく。ジャガイモ・たまねぎ・かぼちゃ・アスパラなど北海道が全国生産高の大半を占める農産物も多い。これらにもハスカップと同様、ポリフェノールが多く含まれている。これらに含有されているポリフェノールを活用して、がん治療に伴う口内炎の予防法を構築することができれば、皮などの加工廃棄物や出荷規格外野菜の位置づけが「産業廃棄物」から「安価かつ付加価値の高い機能性材料」へ変換されうる。