

別紙 1

## 博士論文要旨

論文題目：抗癌剤誘発脱毛（CIA）に対するエダラボンの抑制効果  
-CIAモデル動物を用いた研究-

申請者 米田 勝晃

専攻分野 医療薬学専攻

研究指導分野 臨床薬学分野

指導教員 辻 琢己

化学療法誘発性脱毛症（CIA, chemotherapy induced alopecia）は、殺細胞性抗癌剤を投与した際に生じる副作用であり、生活の質を大幅に低下させる要因のひとつである。特に女性においては、脱毛の精神的苦痛は計り知れず、約 58% の患者が最も辛い副作用として挙げ、約 8% の患者が化学療法を拒否することなどが報告されている。

CIA を生じやすい抗癌剤として、アルキル化薬、アントラサイクリン系薬、微小管阻害薬などが挙げられる。また、一般に癌化学療法では、抗癌剤を組み合わせたレジメンに従って投与されるため、脱毛の発生率は増加する。特に、乳癌や卵巣癌のレジメンでは 90% 以上の頻度で脱毛を生じることもある。これらの背景から、CIA を抑制・治療する方法の構築には、臨床からの強い要請がある。

2015 年には、米国食品医薬品局が頭皮を冷却し毛包を不活性化することで、抗癌剤の影響を受けにくくする頭皮冷却装置を承認し、臨床応用されている。日本でも 2019 年に医療機器として承認された。しかし、設備導入費用が高額であること、手順が繁雑であること、効果にばらつきが生じることなど、様々な課題が山積している。一方、抗酸化物質が化学療法によって生じる毒性を軽減する可能性が報告されている。また、化学療法によって生成されるフリーラジカルやその他の活性酸素種を排除することにより、細胞の損傷を抑制できることも報

告されている。

申請者は、幅広い抗酸化活性を有することが知られているエダラボン (EDR, edaravone) に着目した。EDR は酸化力の強い多くのフリーラジカルの作用を減弱させる。実臨床においては、脳梗塞急性期の患者に用いるフリーラジカルスカベンジャーとして上市されている。その後、筋萎縮性側索硬化症の進行を抑制する作用が認められ、世界的に注目を集めている。しかし、重篤な腎機能障害があらわれたとの報告により、緊急安全性情報が発出された経緯がある。癌化学療法中の患者には、前述の臓器障害が少なからず存在することも懸念され、全身性の有害事象の発現を防止することを目的に、可能な限り局所のみには効果が期待できる投与方法として、外用療法を選択した。

本研究では、シクロホスファミド (CPA, cyclophosphamide) 誘発性の CIA による生活の質の低下を抑制し、化学療法を完遂するための脱毛抑制・治療方法の構築を目的とした。即ち、1) CPA 誘発脱毛に対する EDR 軟膏の抑制効果、および 2) CPA 誘発脱毛に対する EDR ローションの抑制効果について、CIA の研究で広く使用される CIA モデルラットを用いて調べた。

## 第 1 章 CPA 誘発脱毛に対するエダラボン軟膏の抑制効果

Wistar 系ラット (3 週齢, 雄性) の背部皮膚を day 0 に脱毛し、成長期の毛包を誘導した。続いて、day 9 に control 群 (n=10) 以外のラットに CPA (75 mg/kg) を腹腔内投与し CIA を誘導した。これらのラットを EDR 0% 群 (n=10, 軟膏基剤塗布)、EDR 3% 群 (n=10, 3% EDR 軟膏塗布) および EDR 30% 群 (n=10, 30% EDR 軟膏塗布) に分けた。CPA を投与した day 9 から屠殺前日 (day 15 あるいは day 20) まで 1 日 1 回軟膏基剤または各濃度の EDR 軟膏を塗布した。写真撮影を 1 日 1 回行い、day 16 (n=5) あるいは day 21 (n=5) に屠殺後、背部皮膚を採取した。撮影した写真を盲検化した後に、3 名の観察者によって被覆率をスコア化した。その結果、EDR 0% 群と比較して、EDR 3% 群および EDR 30% 群において、被覆率スコアの低下が抑制された。また、各群の皮膚組織の Hematoxylin-Eosin 染色像から毛包面積を比較した結果、day 16 の毛包面積は、EDR 0% 群と比較して、EDR 3% 群および EDR 30% 群で、有意に高値を示した。

続いて、各群の皮膚組織を用いて、毛周期および毛包の分化、増殖に関与する IGF-1 の mRNA 発現量を real-time RT-PCR 法を用いて定量した。その結果、day 16 において EDR 0% 群の IGF-1 の mRNA 発現量は control 群と比較して有意な低下がみられた。一方、EDR 3% 群および

EDR 30%群は control 群と同等レベルに維持されていた。

次に、毛包のアポトーシス阻害タンパク質である Bcl-2 およびアポトーシス促進タンパク質である Bax の mRNA 発現量を調べた。その結果、day 16 の EDR 0%群の Bcl-2 mRNA 発現量は control 群と比較して有意な低下がみられた。一方、EDR 3%群および EDR 30%群は control 群と同等レベルに維持されていた。

続いて、細胞アポトーシスを促進する可能性を確かめるために、各群の Bcl-2/Bax mRNA 発現量比を算出した。Day 16 では、control 群と比較して EDR 0%群で低下がみられた。一方、EDR 3%群および EDR 30%群では低下の抑制がみられ、control 群と同等レベルであった。

以上の結果から、EDR 軟膏を塗布することにより CPA 誘発脱毛を軽減できること、および EDR 3%群と EDR 30%群の脱毛抑制効果に差がみられないことが示された。また、CPA による毛包のアポトーシスが抑制され、毛母細胞の障害が軽減された可能性が示された。

## 第 2 章 CPA 誘発脱毛に対するエダラボンローションの抑制効果

実臨床において、軟膏基剤を用いた場合、毛で覆われた頭皮へ確実に塗布することは難しい。また、ワセリンを中心とした油脂性基剤の特性上、薬物の放出性やべたつき等の使用感に課題がある。そこで、これらの難点を解決するため、EDR をローション剤に変更して効果を調べた。第 1 章の結果から、EDR 3%と 30%の効果に大きな差がみられなかったことから、EDR ローションの濃度は 3%およびより低用量である 0.3%を選択した。加えて、臨床で使用される多くのローション剤と同様に 1 日 1 回および 1 日 2 回の塗布回数とした。

第 1 章と同様に Wistar 系ラット (3 週齢, 雄性) を用いて、成長期の毛包を誘導した。続いて、day 9 に control 群 (n=5) 以外のラットに CPA (75 mg/kg) を腹腔内投与し CIA を誘導した。これらのラットを EDR 0%群 (n=5, ローション基剤 1 日 1 回塗布), EDR 0.3%×1 回群 (n=5, 0.3%EDR ローション 1 日 1 回塗布), EDR 3%×1 回群 (n=5, 3%EDR ローション 1 日 1 回塗布), EDR 0.3%×2 回群 (n=5, 0.3%EDR ローション 1 日 2 回塗布) および EDR 3%×2 回群 (n=5, 3%EDR ローション 1 日 2 回塗布) に分けた。CPA を投与した day 9 から屠殺前日 (day 20) まで 1 日 1 回もしくは 1 日 2 回、ローション基剤または各濃度の EDR ローションを塗布した。写真撮影を 1 日 1 回行い、day 21 に屠殺後、背部皮膚を採取した。

EDR 0.3%×1 回群および EDR 3%×1 回群の被覆率は、EDR 0%群と比較してスコアの低下が抑制された。加えて、EDR 0.3%×2 回群およ

び EDR 3%×2 回群の被覆率スコアは、EDR 0%群と比較して有意に高値であり、塗布回数に依存して脱毛の抑制効果が高くなる傾向がみられた。さらに、EDR 0.3%×2 回群および EDR 3%×2 回群の被覆率スコアは、day 20 から day 21 にかけて上昇傾向を示したことから、EDR の効果が CIA の抑制だけでなく、CIA からの回復に繋がる再発毛促進効果を有する可能性も考えられた。

各群の皮膚組織由来の IGF-1, Bcl-2 および Bax mRNA の発現量を調べた結果、IGF-1, Bcl-2 および Bax の全てにおいて CPA を投与した 5 群は control 群と比較して低い傾向が認められた。一方で、Bcl-2/Bax mRNA 発現量比では、EDR 塗布回数あるいは塗布量の増加に伴い上昇した。特に、EDR 3%×2 回群においては control 群と同等レベルに維持されていた。

以上の結果から、EDR ローションを塗布することにより CPA 誘発脱毛を軽減でき、塗布回数を 1 日 2 回に増やすことで、EDR 軟膏と同等の効果を得られることが示された。

本研究では、EDR 軟膏あるいはローションの塗布により、CPA の投与によって生じる CIA に対する抑制効果が示された。同様に、EDR ローションの塗布回数を 1 日 1 回から 2 回に増やすことで、軟膏と同等の脱毛抑制効果が得られることが示された。さらに、この脱毛抑制効果は、毛包細胞のアポトーシスを抑制することで得られたことを Bcl-2 と Bax mRNA 発現量およびその比率から明らかとした。加えて、さらに詳細な検討を必要とするが、EDR の塗布により再発毛の促進に繋がる糸口を得た。

ただし、EDR の抗酸化作用のみでは、脱毛抑制効果に限界があることも示された。従って、EDR 以外の発毛を促進できる薬剤や毛包への抗癌剤送達量を減少させることができる薬剤についても調べる必要がある。併せて、CIA を生じる他の原因についても明らかとし、より高い脱毛抑制効果を得ることができる方法を構築する必要がある。これらの有用性とメカニズムが明らかとなれば、現在、臨床で用いられている頭皮冷却装置を用いた方法よりも、汎用性が高く、患者負担を軽減できる予防・治療方法になると考えられる。