

「酸化ストレスマーカー8-hydroxy-2'-deoxyguanosine  
によるストレス評価及び酸化ストレス状態に対する  
トマトジュース投与の有用性に関する検討」

弘前大学大学院保健学研究科保健学専攻

提出者氏名： 福 士 泰 世

所 属： 健康支援科学領域 障害保健学分野

指導教員： 井 瀧 千 恵 子

## 目次

略語一覽 .....	2
序論.....	3
研究1.....	7
序論.....	7
方法.....	8
結果.....	11
考察.....	15
研究2.....	20
序論.....	20
方法.....	21
結果.....	23
考察.....	26
研究3.....	29
序論.....	29
方法.....	31
結果.....	39
考察.....	54
まとめ .....	61
謝辞.....	62
引用文献.....	63
Abstract.....	70

## 略語一覧

CTCAE: 有害事象共通用語規準

(Common Terminology Criteria for Adverse Events)

dGTP: デオキシグアノシン三リン酸 (deoxyguanosine triphosphate)

dG: デオキシグアノシン (deoxyguanosine)

GSH: 還元型 グルタチオン (Glutathione)

GSSG: 酸化型グルタチオン (Glutathione disulfide)

GPX: グルタチオンペルオキシダーゼ (Glutathione peroxidase)

GRd: グルタチオンレダクターゼ (Glutathione reductase)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: 過酸化水素 (Hydrogen peroxide)

NOX: 窒素酸化物 (Nitrogen oxide)

O<sub>2</sub><sup>•-</sup>: スーパーオキシド (Superoxide)

•OH: ヒドロキシラジカル (Hydroxyl radicals)

PRDX: ペルオキシレドキシン (Peroxiredoxin)

PTV: 計画標的体積(Planning Target Volume)

ROS: 活性酸素種 (Reactive Oxygen Species)

SOD: 活性酸素分解酵素 (Superoxide dismutase)

## 序 論

人間の生命維持には酸素が必要であり、エネルギー産生系で酸素が利用されている。そのエネルギー産生の過程で数%の酸素は、反応性の高い活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)に変化する<sup>1)</sup>。ROS に代表される酸化ストレスは生理的な状態で絶えず発生しており、喫煙や激しい運動、放射線、紫外線、大気汚染物質などの要因によっても発生する。ROS は生体内で細菌などの異物除去や殺菌<sup>2)</sup>、この他、放射線治療の効果発現などにおいて大きな役割を担っている。しかし、ROS 産生が過剰になった場合、DNA や脂質、蛋白質、酵素などの生体高分子と反応し、生体に障害を与える<sup>3,4)</sup>。そのため、ROS を効率よく消去する機構も重要であり、生体内には酸化ストレスから正常組織を防御するための抗酸化ネットワークが存在している<sup>5)</sup>。この抗酸化ネットワークは3段階から成り立つ。第1段階は、スーパーオキシドディスムターゼ(SOD: Superoxide dismutase)やグルタチオンペルオキシダーゼ(Glutathion[GSH] peroxidase)、カタラーゼ(Catalase)といったROSを除去する働きのある抗酸化酵素が予防型抗酸化ネットワークを形成し、ROSの産生を抑制している。第2段階は、ビタミンCやビタミンE、カロテノイドなどの抗酸化物質によるフリーラジカル捕捉型の抗酸化ネットワークである。水溶性抗酸化物質と脂溶性抗酸化物質が相互作用してネットワークを形成し、ROSと直接反応し消去している。第3段階は、酸化的損傷を受けた脂質、蛋白質、DNAの修復・再生である(修復再生型抗酸化作用)。ホスホリパーゼ、プロテアーゼ、トランスフェラーゼ、DNA修復酵素などが主に作用する。これらの抗酸化ネットワークと酸化ストレスのバランスが崩れ、後者が優勢となることで生体内は酸化ストレス状態になる。この酸化ストレス状態は老化や生活習慣病、癌などの様々な疾患の発生、促進の要因になる。

酸化ストレスによる生体内の影響を反映するマーカーに8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG)や diacron-Reactive Oxygen Metabolites (d-ROMs)がある。8-OHdGはDNAを構成する塩基の一つ deoxyguanosine (dG)の8位がヒドロキシル化された構造を持つDNA酸化ストレスマーカーである。dGはROSによる酸化を受けやすいことで知られるが、これにより産生された8-OHdGは除去修復

され細胞外に排出される<sup>6)</sup>(図 1)。d-ROMs は、ROS によってタンパク質やアミノ酸、ペプチド、グルコシド、脂質、ヌクレオチドなどが酸化されることで生じる活性酸素代謝物、主に血中のヒドロペルオキシドを測定する、生体内の酸化的損傷マーカーである。このヒドロペルオキシドは比較的安定した化学物質である。

8-OHdG については、運動や BMI、労働条件、喫煙などの生活習慣、糖尿病やうつ病などと関連する<sup>7,8)</sup>ことが報告されている。8-OHdG は心身のストレスをも反映すると考えられるが、8-OHdG を心身のストレス評価に用いた研究は未だその数が限られている。また、抗酸化物質は内因性及び外因性要因によって生じる酸化ストレスに作用し消去するネットワークを形成することから、抗酸化物質の摂取は酸化ストレス状態に好影響をもたらすと考えられ、最近抗酸化物質の中でも特にカロテノイドが注目されている<sup>9)</sup>。上記内容の概要を図 1 に示した。

本研究の目的は、8-OHdG などの酸化ストレスマーカーを用いて、日常的にストレス状態に晒されている集団の酸化ストレス状態の経時的変化を評価すること、及び酸化ストレス状態に対する外因性抗酸化物質含有食品(トマトジュース)投与の有用性を検討することである。

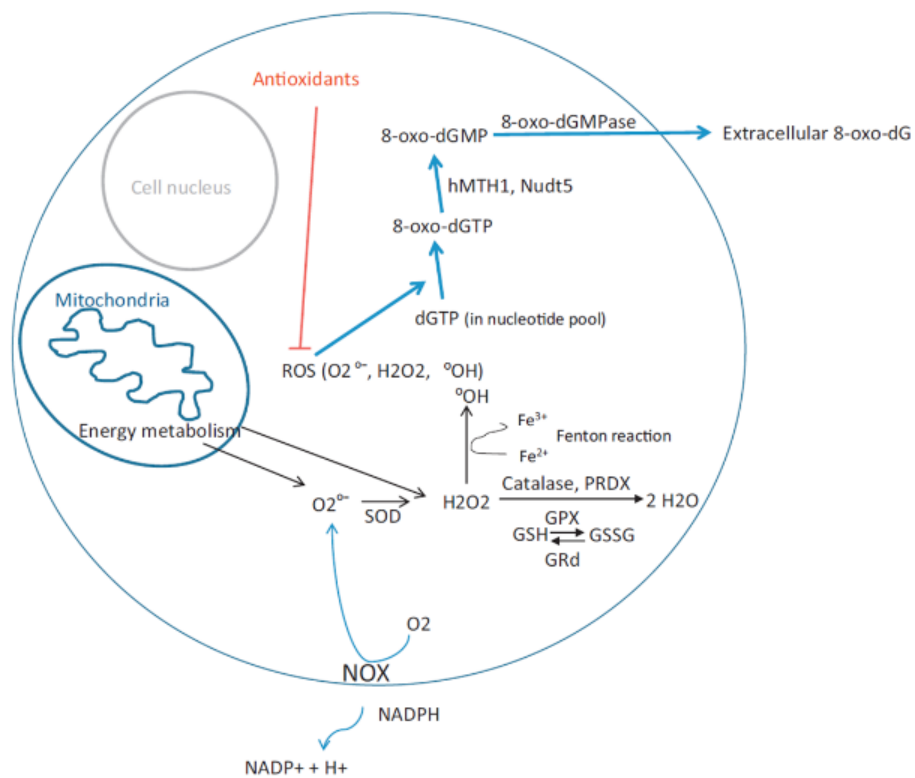


図 1. フリーラジカルの生成を含む細胞内のメカニズム及び防御機構

Sara Skiöld et al., 2013 から転載<sup>10)</sup>

- ROS: 活性酸素種(Reactive Oxygen Species)  $O_2^{\bullet-}$ : スーパーオキシド(Superoxide)  
 $H_2O_2$ : 過酸化水素(Hydrogen peroxide)  $\bullet OH$ : ヒドロキシラジカル(Hydroxyl radicals)  
 SOD: 活性酸素分解酵素(Superoxide dismutase) NOX: 窒素酸化物(Nitrogen oxide)  
 PRDX: ペルオキシレドキシン(Peroxiredoxin)  
 GSH: 還元型 グルタチオン(Glutathione)  
 GSSG: 酸化型グルタチオン(Glutathione disulfide)  
 GPX: グルタチオンペルオキシダーゼ(Glutathione peroxidase)  
 GRd: グルタチオンレダクターゼ(Glutathione reductase)  
 dGTP: デオキシグアノシン三リン酸(deoxyguanosine triphosphate)  
 8-oxo-dGTP: 8-オキソ-2'-デオキシグアノシン三リン酸  
 (8-oxo-2'-deoxyguanosine triphosphate)

8-oxo-dGMP: 8-オキソ-2'-デオキシグアノシン一リン酸

(8-oxo-2'-deoxyguanosine monophosphate)

hMTH1: ヒト MutT ホモログ-1 (human MutT homolog-1)

Nudt5: ヌクレオシド二リン酸類縁体加水分解酵素 5 (Nudix hydrolase 5)

8-oxo-dGTPase: 8-オキソ-2'-デオキシグアノシン三リン酸分解酵素

(8-oxo-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate pyrophosphohydrolase)

8-oxo-dG: 8-オキソ-2'-デオキシグアノシン( 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine)

8-oxo-dG と 8-OHdG は互変異性体であり、同様の酸化生成物である<sup>11)</sup>。本研究では 8-OHdG を用いる。

註) 活性酸素種(ROS)産生の内因性要因の一つにミトコンドリアのエネルギー代謝がある。ミトコンドリアのエネルギー代謝過程でスーパーオキシド( $O_2\cdot^-$ )や過酸化水素( $H_2O_2$ )などの ROS が生じる。 $O_2\cdot^-$  は半減期が短く、SOD によって  $H_2O_2$  に変わる。 $H_2O_2$  は不対電子をもたないため比較的安定であり、細胞膜を通過して核を含めた細胞内へ拡散する。カタラーゼ(Catalase)やペルオキシレドキシシン(PROX)、グルタチオンペルオキシダーゼ(GPX)の抗酸化酵素の働きによって  $H_2O_2$  を水に分解する。また、 $H_2O_2$  自体が細胞に障害を与えることはないが、遷移金属(図:Fe)の存在下ではきわめて反応性の高いヒドロキシラジカル( $\cdot OH$ )に変わる(フェントン反応)。

ROS 産生の外因性要因として環境因子があり、例として放射線、紫外線、大気汚染物質、薬剤、炎症、喫煙や激しい運動などの身体活動などがあげられる。放射線の影響については、放射線が生体内の約 60-80%を占める水に作用することで、水の電離及び励起が生じ、ラジカル( $H\cdot$ 、 $\cdot OH$  など)や水和電子が産生される。さらに水和電子が細胞内に溶解している酸素と反応することで  $O_2\cdot^-$  が発生する。産生された ROS により、ヌクレオチドプール中の DNA 合成の前駆体であるデオキシグアノシン三リン酸(dGTP)が酸化され、8-oxo-dGTP が生じる。さらに 8-oxo-dGTP を分解する酵素である hMTH1 や NUdt5 によって 8-oxo-dGMP に変換される。8-oxo-dGMP は 8-oxo-dGMPase によって細胞外に排出され、8-oxo-dG(8-OHdG)となる。

## 研究 1

### 運動負荷に伴う 8-OHdG の経時的変動～血清・唾液・尿検体の有用性の検討～

#### 序 論

8-OHdG は ROS による生体への影響を鋭敏に反映すると考えられており、血清、尿など、多様なサンプルを対象に生体内酸化ストレスを評価することができる<sup>6)</sup>。8-OHdG は、細胞内ヌクレオチド損傷修復に伴い産生されたのち、細胞外へ放出され、血中へ移行する。そのため、血清や尿検体だけでなく血漿成分を元につくられ、非侵襲的に採取できる唾液を検体としても測定が可能であると考えた。しかし、唾液中 8-OHdG の酸化ストレスマーカーとしての有用性について検討した報告は現時点では少ない。また、一般的に 8-OHdG の測定は尿検体を材料として ELISA 法を用いて行われているが、尿および血清でも測定可能な臨床検査用の測定器が開発され、簡便迅速に結果を得ることが可能となった。これまで尿や血清、唾液の成分の比較やこれらサンプルに含まれる酵素などの比較検討がなされているが、どのようなサンプルが 8-OHdG を鋭敏に反映するかについて検討した研究は、ほとんど見られていない。サンプルの種類によるマーカーの動態の違いを把握することは、正確な生体内酸化ストレス評価に繋がると考える。

先行研究で白血球の DNA 損傷が運動後に有意に増加したことが報告されていることから<sup>12)</sup>、本研究では、酸化ストレス増大の一因となり得る運動負荷を実施し、血清、唾液、新鮮尿の 8-OHdG を経時的に観察、解析した。さらに身体影響の評価に対する有用性及び 8-OHdG を鋭敏に反映する検体の選択についても検討した。



## 方 法

### 1. 対象

健全な男子学生 7 人とした。血清 8-OHdG の対象者は男子学生 7 人のうち 6 人であり、平均年齢は  $23.2 \pm 1.5$  歳であった。唾液中及び尿中 8-OHdG の対象者は男子学生 7 人であり、 $23.0 \pm 1.4$  歳であった。

### 2. 運動負荷

1km あたり 6 分の設定で 6km 走を実施した。運動強度は 10 メッツ(metabolic equivalents)とした<sup>13)</sup>。また、飲食による影響を抑えるため、運動負荷 5 時間前から運動負荷 1 時間後まで絶食とし、水のみ自由摂取とした。運動時は水分摂取も禁止とした。実験スケジュールを図 2 に示した。

### 3. サンプル採取・測定

血液、唾液、尿サンプルは、運動 1 時間前、運動 1 時間後、運動 24 時間後に採取した。

#### 1) 血液サンプルの測定

SST 採血管を使用し、各時点で採血をした。合計 18 個のサンプルとした。血液検体は  $400G \times 30min$  で遠心、血清分離し、 $-80^{\circ}C$  で保存した。血清 8-OHdG 濃度は、以前に報告された手順<sup>14, 15, 16)</sup>に従い、ELISA 法で測定した。ELISA キット(Health Biomarkers Sweden AB, Stockholm, Sweden)を用いた。先行研究で報告された手順に則って<sup>17)</sup>、 $800 \mu l$  の血清を C18 固相抽出フィルター (Varian, Lake Forest, CA, USA)に通し不純物を除去した。プレート毎に  $0.01-10 \text{ ng/ml}$  の 8-OHdG 標準液を用い標準曲線を作成し、マイクロプレートリーダー (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)で  $450 \text{ nm}$  における吸光度を測定した。1 サンプルにつき 3 つの組にし、測定を行った。得られた吸光度から検量線を作成し、血清 8-OHdG 濃度を算出した。得られた 3 つの測定値から平均値と SD を求め、この平均値を測定値とした。

## 2) 唾液サンプルの測定

唾液サンプルを採取する際、数回の含嗽実施後にサンプルを採取することを依頼した。合計 21 個のサンプルとした。ペプシンを使用して唾液の粘性を処理した。唾液 8-OHdG 濃度は、血清 8-OHdG 濃度の測定と同様に ELISA キットを使用して ELISA 法で測定し、その後、吸光度を測定した。得られた吸光度から検量線を作成し、唾液 8-OHdG 濃度を算出した。血清と同様に 1 サンプルにつき 3 つの組にして測定を行い、平均値と SD を求めた。この平均値を測定値とした。

## 3) 尿サンプルの測定

尿中 8-OHdG の測定は、尿中酸化ストレスマーカー測定システムリーダー ICR-001 (Techno Medica) を用いて行った。この専用測定システムでは、8-OHdG にはイムノクロマト法、クレアチニンには Jaffe 法が用いられている。尿サンプルは、随時尿の中間尿を採取することを依頼し、採取後は速やかに測定を行った。合計 21 個のサンプルとした。同システムのプロトコールに従い、サンプル 100 $\mu$ l と超純水 100 $\mu$ l を混合し、サンプルを 2 倍希釈して測定を行った。その上で随時尿に対処するため、8-OHdG 値はクレアチニン値で補正をした。各サンプルの 3 回の測定値から平均と SD を求め、この平均値を測定値とした。

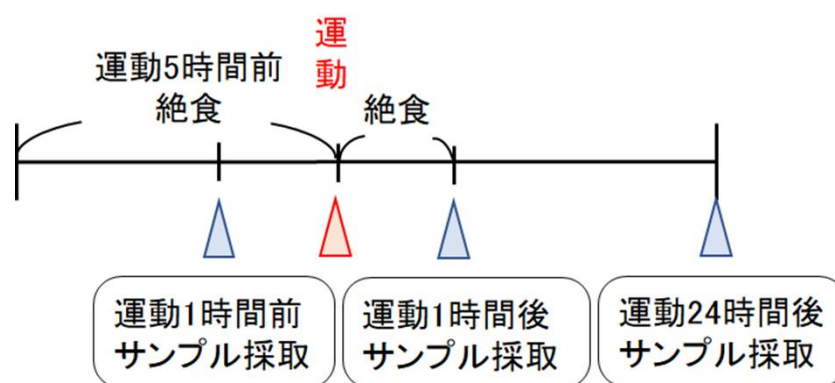


図 2. 実験スケジュール

#### 4. 統計解析

分析には、統計ソフト IBM SPSS Statistics 22 を用いた。各サンプルの運動 1 時間前、運動 1 時間後、運動 24 時間後の 3 時点の比較は repeated measure ANOVA 及び Tukey-HSD 検定を行った。いずれも有意水準は 5%未満とした。

#### 5. 倫理的配慮

本研究は、弘前大学大学院保健学研究科倫理委員会の承認のもとに実施された (2014-001)。全ての対象者からインフォームドコンセントにより同意が得られた後、検体採取時及び運動負荷前に対象者の体調を確認した。

## 結果

### 1. 対象者背景

喫煙習慣のある学生はいなかった。また、運動習慣のある学生は1人であった。表1に対象者の背景を示した。

表 1. 対象者背景 (n=7)

	血清 (n=6)	唾液・尿 (n=7)
平均年齢 (歳)	23.2±1.5	23.0±1.4
BMI	24.2±5.2	24.2±4.7
喫煙習慣 あり	0人	0人
運動習慣 あり	1人	1人

### 2. 血清 8-OHdG 値

図 3 に各測定ポイントにおける血清 8-OHdG 値の経時的変動を示した。血清 8-OHdG 値は、運動 1 時間前 0.38±0.13 ng/ml、運動 1 時間後 0.35±0.10 ng/ml、運動 24 時間後 0.35±0.16 ng/ml であった。3 時点における、血清 8-OHdG 値の有意な変動はなかった。図 4 に対象者別のグラフを示した。運動習慣ありの対象者の血清 8-OHdG 値は、運動 1 時間後に大きく低下した。

### 3. 唾液中 8-OHdG 値

図 5 に各測定ポイントにおける唾液中 8-OHdG 値の経時的変動を示した。唾液中 8-OHdG 値は、運動 1 時間前 0.39±0.30 ng/ml、運動 1 時間後 0.47±0.30 ng/ml、運動 24 時間後 0.49±0.31 ng/ml であった。3 時点における、唾液中 8-OHdG 値の有意な変動はなかった。図 6 に対象者別のグラフを示した。運動習慣ありの対象者の唾液中 8-OHdG 値は、運動 1 時間後、24 時間後にかけて上昇する変化を示した。

### 4. 尿中 8-OHdG / CRE 値

図 7 に各測定ポイントにおける尿中 8-OHdG / CRE 値の経時的変動を示した。尿中 8-OHdG / CRE 値は、運動 1 時間前 17.9±4.1 ng/mg CRE、運動 1 時間後

43.0±14.1ng/mg CRE、運動 24 時間後 22.1±13.8 ng/mg CRE であった。運動 1 時間前に比べ運動 1 時間後に尿中 8-OHdG / CRE 値が有意に上昇していた( $p<0.01$ )。また、運動 1 時間後に比べ運動 24 時間後には尿中 8-OHdG / CRE 値が有意に減少していた( $p<0.01$ )。運動 1 時間前と運動 24 時間後では、有意な変動はなかった。運動習慣ありの対象者の尿中 8-OHdG 値は、全体の変動が最も小さかった。図 8 に対象者別のグラフを示した。

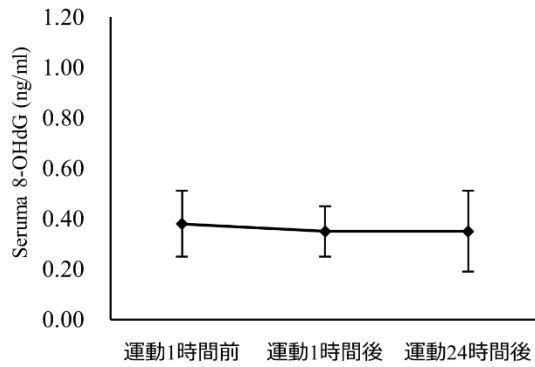


図3. 血清 8-OHdG の経時的変化

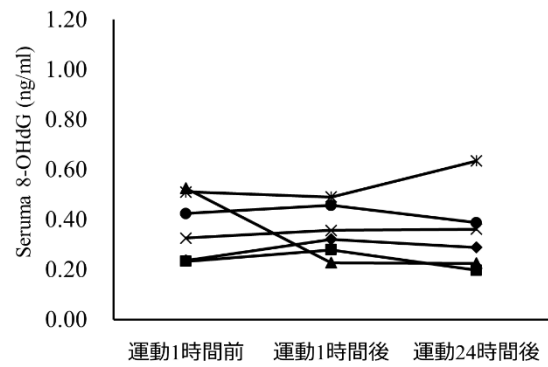


図4. 血清 8-OHdG の経時的変化(対象者別)

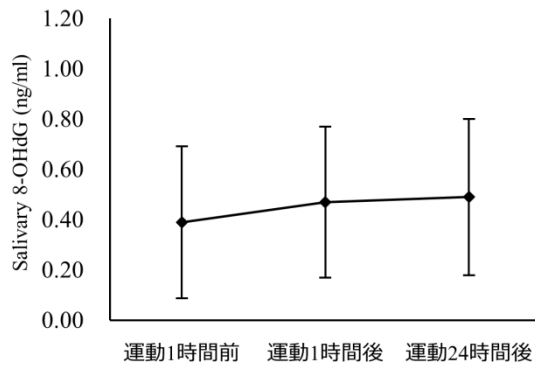


図5. 唾液中 8-OHdG の経時的変化

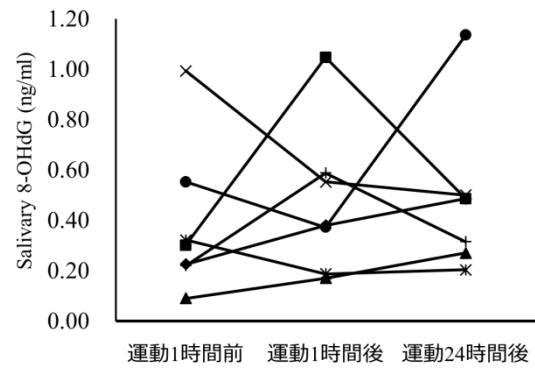


図6. 唾液中 8-OHdG の経時的変化(対象者別)

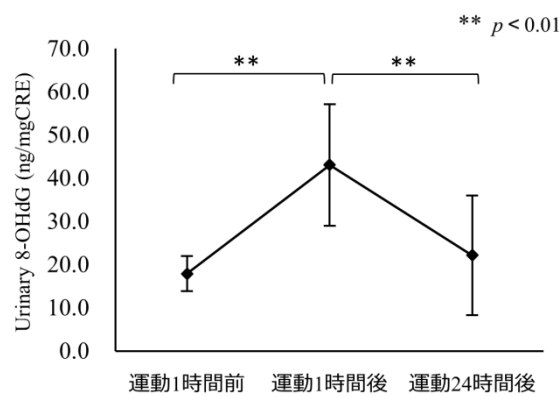


図7. 尿中 8-OHdG の経時的変化

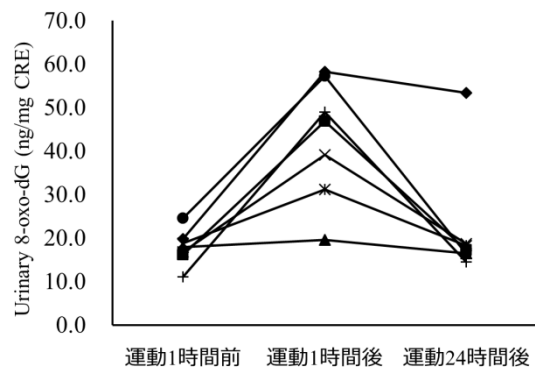


図8. 尿中 8-OHdG の経時的変化(対象者別)

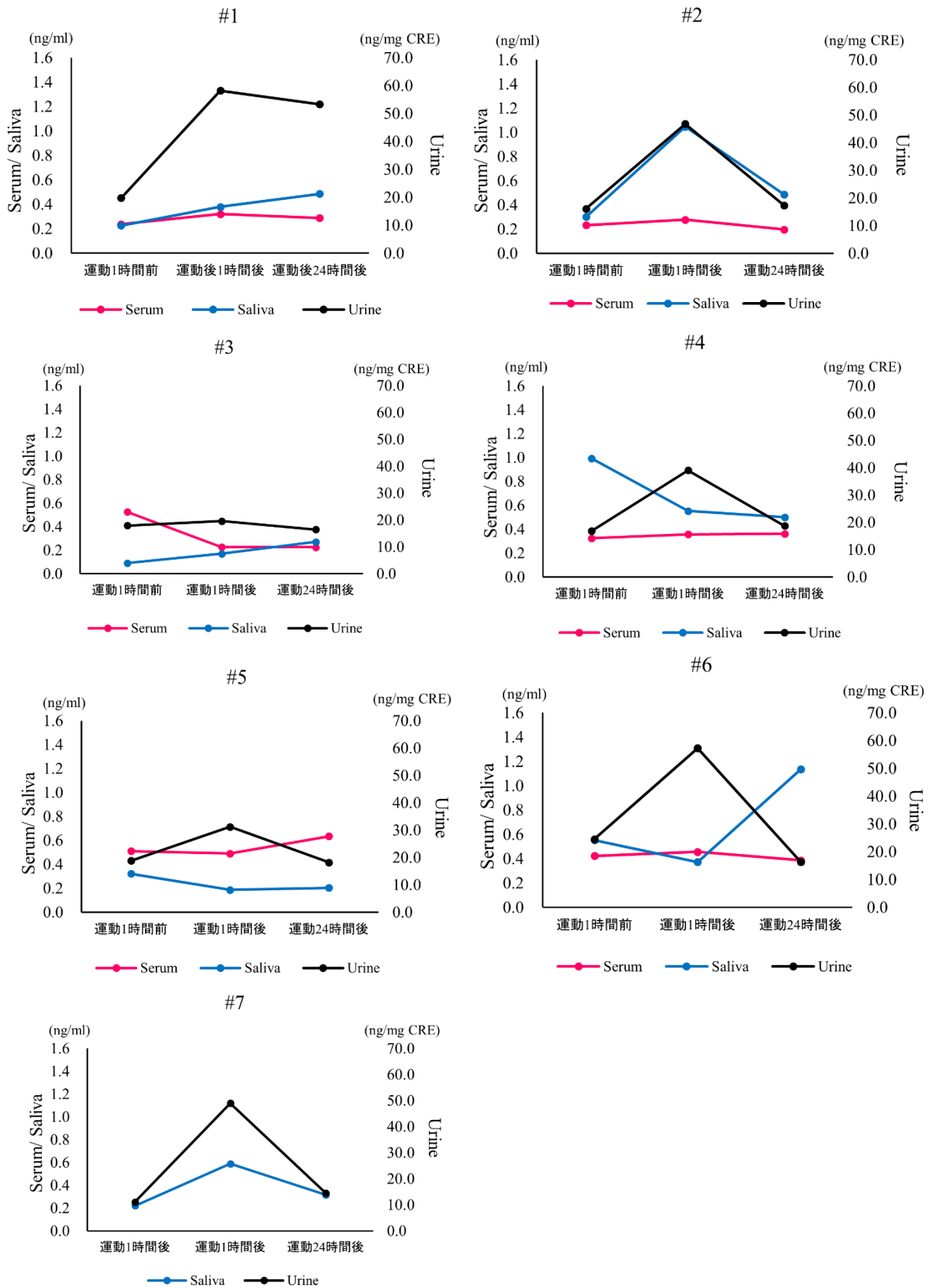


図9. 対象者別の各サンプルの変化

## 考 察

健常な男子学生を対象に 6km 走の運動負荷を加え、運動前後及び運動 24 時間後に血液、唾液、尿を採取し、各サンプル中の 8-OHdG 値の経時的変動について観察した。

### 1. 血清サンプル

血清 8-OHdG 値では、運動 1 時間前、運動 1 時間後、運動 24 時間後で明らかな経時的変化は認められなかった。対象者別で血清 8-OHdG 値の経時的変化をみると、ほとんどの対象者は運動前後で変化が認められず、一部の対象者は、運動 24 時間後に血清 8-OHdG 値が上昇、又は運動直後に減少しており、個人間のばらつきが目立った。8-OHdG は年齢、運動習慣、代謝機能、喫煙、肥満、ストレスや生活習慣などによって個人差が生じるとされるが、今回の結果は、これらを反映していた可能性がある。Harms-Ringdahl ら<sup>14)</sup>は、最大心拍数 80% の高強度の運動負荷を 20 分間実施し、その結果、運動 1 時間後に血清 8-OHdG レベルが有意に上昇したことを報告している。しかし、本研究で同様の変化が認められたのは、6 例中 4 例であった。残り 2 例のうち 1 例に関しては、8-OHdG の産生増大、代謝機能低下などの可能性があるが、運動直後に大きな低下をみた 1 例は、運動習慣のある対象者であり、この考えが適合しない。また、運動習慣がある場合においても増加することが推測されるため、解釈が難しい。本研究結果から、中～高強度の運動負荷による生体内のストレスは、血清 8-OHdG に反映されにくいと考えられた。本研究で実施した運動負荷において、対象者の中には途中歩いてしまった学生もいた。そのため、十分な運動負荷ではなかった可能性がある。血清 8-OHdG 値による酸化ストレスを評価する場合、高強度の運動負荷を十分かつ出来るだけ均等に行うことが必要と考えられた。

### 2. 唾液サンプル

唾液中 8-OHdG 値においても、血清と同様に運動 1 時間前、運動 1 時間後、運動 24 時間後の 3 時点における明らかな経時的変化は認められなかった。唾液は



主に腺房細胞で産生される。一部の唾液成分は、副交感神経終末から分泌されるアセチルコリンが唾液腺細胞の基底側膜のムスカリン性受容体に結合することで、血漿中の水が唾液として分泌される<sup>18, 19)</sup>。人体は交感神経と副交感神経の二重支配を受けているが、採血が実施された1時間後では、交感神経支配が次第に減弱し副交感神経優位となり、その影響により、血漿成分を元に作られる唾液中に血清中の8-OHdGが濃縮されている可能性が考えられる。このことは、酸化ストレスマーカーとして唾液は血清に比べて酸化ストレスをより反映している可能性が考えられるが、さらなる検討が必要である。血清の経時的変化とは異なり、運動1時間後及び24時間後にも唾液中8-OHdG値が上昇する変化が6人中3人に認められた。中島らは、Hartmannらが行った、非鍛錬者を対象にした疲労困憊までの運動の実施によるDNA損傷の変化について、DNA損傷がピークに達するには、一過性の運動後かなりの時間が必要と考えている。また、一過性の運動負荷後にみられる酸化ストレスの程度とその回復に要する時間は、運動負荷の強度と深く関わっていることを報告している<sup>20)</sup>。今回実施した6km走では、DNA損傷がピークになるまでに時間を要し、24時間後の唾液中8-OHdG値上昇に関連した可能性はある。対象者別で見た場合、血清と同様に個人間のばらつきが目立った。

一部の対象者には、運動後に唾液中8-OHdG値が上昇し、24時間後には唾液中8-OHdG値が減少する傾向が認められた。これは、酸素消費量の増加に伴い、活性酸素の産生が促進され、DNAの酸化的損傷が促進されたこと、及び生体内に備わる抗酸化システムによる修復の影響であると考えられる。また、全体の結果と同様、運動1時間後より運動24時間後に唾液中8-OHdG値が上昇する傾向が認められた。これは、前述のようにDNA損傷がピークになるまでに時間がかかった可能性があり、また、修復レベルの個人差により、回復が間に合わず、減少しなかった可能性もあると考えられる。一方、運動1時間前に比べて運動1時間後に唾液中8-OHdG値が減少した理由として、運動誘発性発汗による汗への排泄の可能性がある。唾液は耳下腺・顎下腺・舌下腺と多数の小唾液腺から漿液と粘液が分泌され、交感神経と副交感神経の二重支配を受けており、副交

感神経が優位に働くと、水やイオンの多い唾液が分泌される<sup>18)</sup>。汗も唾液同様、血漿を元に作られているため、運動中の汗に 8-OHdG が排泄されたことで血中 8-OHdG 値が減少し、その血液から唾液中 8-OHdG 値が作られた可能性があると考えられる。さらに、発汗量に水分摂取量の違いが影響を与えた可能性もある。運動時の水分摂取と発汗に関する先行研究では、運動時に水分を摂取した群は非摂取群に比較し、発汗量が多かったことを報告している<sup>21)</sup>。今回、運動時の水分摂取は禁止としたため、運動時の水分摂取による発汗量への影響は少ないと考えられる。しかしながら、運動負荷前の水分摂取は自由であったため、少なからず発汗量に影響を与えた可能性が考えられる。運動後の水分摂取については、水分を多く摂取した対象者は、体液量が増加し、尿量の増加に繋がった可能性がある。そのため、運動 1 時間後の唾液採取までに尿排泄量が多かった対象者は、尿中に 8-OHdG が排泄されたことも考えられる。

田中らは、唾液分泌量、粘度、組成などは変動や個人差が大きく、唾液採取前のうがいによっても唾液を希釈して濃度変化が生じる点、それらを補正する成分が確立されていない点に留意する必要があると述べている<sup>22)</sup>。これらの留意点に加え、発汗による唾液中 8-OHdG の排泄の可能性を踏まえると、酸化ストレス増大の一因となり得る運動負荷の身体影響評価における唾液検体の利用に関しては、未だ検討すべき因子が多いといえる。

### 3. 尿サンプル

尿中 8-OHdG / CRE 値は運動 1 時間前に比べ運動 1 時間後で有意に上昇し、運動 24 時間後には運動 1 時間前と同程度まで有意に減少していた。尿中 8-OHdG 値は運動負荷により増加することが知られており<sup>20, 23, 24, 25, 26)</sup>、今回の結果は、先行研究と同様の結果であった。この変動は、唾液中 8-OHdG で述べたように、運動による酸化ストレスの上昇と考える。また、運動 24 時間後に尿中 8-OHdG / CRE 値が減少したことも、前述の通り、生体内に備わる抗酸化システムによる修復の影響と考える。

対象者別で見た場合、対象者の中には運動前後の尿中 8-OHdG / CRE 値の変動

がほとんど認められない人や運動 1 時間後から運動 24 時間後の変動が小さい人がいた。しかし、血清や唾液サンプルで認められたような、運動負荷後の 8-OHdG の低下は尿サンプルで認められなかった。尿中 8-OHdG 排泄量は男性では年齢による差がないとされていることから<sup>20, 27)</sup>、個人差が生じた要因として運動習慣や食生活、運動による消費カロリー、抗酸化システムによる修復レベルの低下などが関係していると考えられ、今回の結果はこれらに矛盾しないものであった。今回、尿中 8-OHdG 値を測定するにあたり、新鮮尿を採取後、速やかに測定を行った。運動前後で有意な変動が見られた理由としては、測定した尿検体は凍結保存していないため、検体の保存状態が与える測定結果への影響が少なかったこと、値の安定性が得られたことが考えられる。また、細胞内ヌクレオチド損傷修復に伴い産生された 8-OHdG は、代謝されずに血液を経て尿中に高濃度で排泄される。腎臓では不要な物を含んだ血液が腎動脈から流入し、糸球体で老廃物や分子の小さい物質をろ過し、原尿が作られる。尿細管に送り込まれた原尿のうち、電解質やグルコースなどの生体に必要な成分は尿細管を通過する過程で再吸収され、それ以外の物質は老廃物として尿中に排泄される<sup>28)</sup>。8-OHdG は除去修復された後、生体内に不要な物質として尿中に排泄されると考えられる。そして、尿意を感じ排泄に至るまでは膀胱内に尿が貯められるため、血液や唾液に比べ高濃度になり、尿中 8-OHdG の安定性に繋がったと考える。さらに、運動負荷したことにより、腎血流量が一時的に低下し、運動後の再灌流が腎臓における酸化ストレスをもたらした可能性がある。先行研究では、ラットの腎臓における、虚血-再灌流傷害によって腎臓の皮質及び髄質外層の尿細管細胞の核内に 8-OHdG が蓄積することを報告している<sup>29)</sup>。本研究の一過性の運動負荷においても、腎臓の酸化ストレスの影響が反映された可能性がある。

#### 4. 運動習慣と 8-OHdG の関係

運動習慣のある学生 1 名は、その他の学生よりも、尿中 8-OHdG の変動が小さかった。異なる強度の持久的運動における生理的応答と酸化ストレス度及び抗酸化力との関係を調べた研究では、運動強度の増加に伴い、抗酸化力が高まり

酸化ストレス度の増加を軽減していることが示唆されている<sup>30)</sup>。したがって、運動習慣のある学生(図 9 #3)は、抗酸化力が高かったため、8-OHdG の増加が軽減され、また、修復能も強かったために変動が小さかったと考えられる。以上のことから、複数の手法による酸化ストレスマーカー8-OHdG の測定を行った結果、新鮮尿は血清及び唾液に比較し、運動が惹起する生体内の酸化ストレスを鋭敏に反映する検体の一つとして推奨されることが示唆された。

## 研究 2

### 仮設住宅に居住する被災者のストレス評価: 福島第一原子力発電所事故

#### 序 論

2011年3月11日に三陸沖で地震が発生し、それに伴う津波によって、これまでにない大規模な災害「東日本大震災」が起きた。特に東北地方の沿岸部に位置する岩手県、宮城県、福島県の3県は津波による大きな被害を受けた。この震災によって多くの人が亡くなり、各地では交通網や電気、電話、水道などのライフラインの停止が相次いだ。さらに、津波によって停電が生じたため、福島第一原子力発電所(FDNPP)では冷却機能を失い、「福島第一原子力発電所事故」が発生した。福島第一原子力発電所は、福島県沿岸部にある大熊町と双葉町にまたがって位置している。原発近隣にある13市町村の住民は、原発事故に伴う避難区域設定によって、避難を余儀なくされた。福島県におけるピーク時の避難者数は約16万4千人に達し<sup>31)</sup>、凡そ6年後の現在も約9万人が被災時の自宅に戻ることができないまま生活することを余儀なくされている<sup>32)</sup>。多くの避難者が自宅を失ったため、早急な仮設住宅の建設が求められた。地域住民のコミュニティー確保のために50戸以上の団地に集会所が設置され、グループホーム型の仮設住宅建設がなされ<sup>33)</sup>、被災者相互の扶助、コミュニケーション確保などで重要な役割を果たした。しかし、本谷<sup>34)</sup>は震災から約2年後に仮設住宅で生活していた被災住民の問題について報告している。建設された仮設住宅は、津波や放射線の影響を避けた場所に設置されたため、利便性に欠けていた。加えて、プレハブ型の仮設住宅は構造上、暑さ、寒さ、騒音、プライバシーの確保が十分ではないことなどの問題もあり、居住者には住みづらさがもたらされた。最近の研究では、災害後、被災者においては、焦燥感や気分の落ち込み、睡眠不足がもたらされていること、運動不足、体重増加が報告されている<sup>35,36,37)</sup>。これまで災害時の避難者の酸化ストレス状態を系統的に調査した先行研究は、Saitoら<sup>38)</sup>によって調査された、2004年に日本で起きた中越地震の酸化ストレス状態に関する報告以外、ほとんど見られない。

本研究の目的は、福島第一原子力発電所事故後、過酷な状況下にある被災住民の精神的、身体的ストレスレベルの変化を尿中8-OHdGを用いて評価することである。

## 方 法

### 1. 対象者と方法

対象は福島県 A 町に所属する住民 773 人であり、いずれも仮設住宅に居住する住民である。調査期間は 2013 年から 2015 年であり、住民に年 1 回、尿検体を提出することを依頼した。2013 年に尿検体を提出した住民は 486 人(62.8±18.2 歳)、2014 年が 346 人(66.5±14.6 歳)、2015 年が 195 人(68.3±14.8 歳)であり、年々高齢者の割合が増加していた。また、2013 年に参加した男性は 217 人、女性は 269 人、2014 年では男性 160 人、女性 186 人、2015 年では男性 81 人、女性 114 人であった。研究参加者の住民は、循環器疾患や糖尿病などの慢性疾患を複数もっていた。疾患の加療の有無については確認できなかった。住民は福島県内の複数地域に散在する仮設住宅に居住し、A 町保有の whole body counter FASTSCAN (FASTSCAN™, Canberra™ Inc., USA)により被災後定期的に放射線量測定を受けていた。預託実効線量が 1 mSv を超えた住民はいなかった。

本研究は、弘前大学と A 町の連携に関する協定に基づくとともに、本学医学研究科倫理委員会の承認のもとに実施された(2013-115)。福島県 A 町の被災住民から本研究参加について書面で同意を得た。

2013 年の 11 月から 12 月に 1 回目の尿検体の収集を行った。酸化ストレスの季節変動による影響を考慮し、2014 年及び 2015 年も同様に 11 月から 12 月に尿検体の収集を行った。尿中 8-OHdG は研究 1 と同様に測定し、CRE 値で補正した。8-OHdG の検出限界は 1.0ng/ml であり、CRE の検出限界は 10mg/dl である<sup>39)</sup>。5 人の男性健常ボランティアから得た、本測定器の測定精度は、0.130(range: 0.093-0.197)である。

尿中 8-OHdG の測定は年 1 回行った。住民の年齢の影響を除外するため、尿検体を 3 年間継続して提出した住民 127 人についても分析した。127 人の 2013 年における平均年齢は 69.5±13.5 歳であり、男性 52 人、女性 75 人であった。さらに 65 歳を基準に 127 人を 2 群に分けた。2013 年に 65 歳以上の住民を高齢者群、65 歳未満の住民を非高齢者群とした。高齢者群は 90 人であり、平均年齢 76.2±7.6 歳であった。非高齢者群は 37 人であり、平均年齢 53.0±10.0 歳であった。127 人のうち、慢性疾患なしの人

数は 23 人(18.1%)、循環器疾患ありの人数は 83 人(65.4%)、糖尿病ありの人数は 26 人(20.5%)、その他の慢性疾患ありの人数は 76 人(59.8%)であった。生理的要因の影響を検討するため、65 歳を基準に女性 75 人を 2 群に分けた。日本人の平均閉経年齢は約 50 歳といわれているが、閉経年齢の個人差を考慮し、65 歳を基準とした。2013 年に 65 歳以上の住民を高齢女性群、65 歳未満の住民を非高齢女性群とした。高齢女性群は 52 人であり、平均年齢  $75.2 \pm 6.5$  歳であった。非高齢女性群は 23 人であり、平均年齢  $54.5 \pm 9.4$  歳であった。

## 2. 統計解析

測定値は平均値 $\pm$ SD で示した。全対象者における尿中 8-OHdG の各年の比較は、一元配置分散分析を行い、その後の検定は Games-Howell を用いた。127 人の各年の比較には、繰り返しのある分散分析、その後の検定は Tukey's HSD を行った。全対象者と 127 人の各年の比較には、2 標本の t 検定を用いた。高齢者群と非高齢者群の比較、性別の比較、高齢女性群と非高齢女性群の比較、疾患別の比較は、反復測定のある二元配置分散分析を行った。

## 結 果

各年の対象者の人数及び平均年齢を表 2 に示した。

住民全体における尿中 8-OHdG は、2013 年が  $16.4 \pm 6.4$  ng/mg CRE、2014 年が  $24.9 \pm 11.6$  ng/mg CRE、2015 年が  $27.1 \pm 9.5$  ng/mg CRE であった。2013 年に比べて 2014 年及び 2015 年は有意に高かった(それぞれ  $p < 0.01$ )。さらに、2015 年の尿中 8-OHdG は 2014 年よりも有意に高く( $p < 0.05$ )、尿中 8-OHdG は経年的に増加した(図 10)。

3 年間連続して尿検体を提出した 127 人について分析を行った。尿中 8-OHdG は、2013 年が  $16.3 \pm 7.1$  ng/mg CRE、2014 年が  $24.6 \pm 11.5$  ng/mg CRE、2015 年が  $26.9 \pm 9.8$  ng/mg CRE であった。2014 年及び 2015 年の尿中 8-OHdG は、2013 年に比べて有意に高かった(それぞれ  $p < 0.01$ )(図 11)。127 人と全住民の各年の尿中 8-OHdG を比較した結果、有意差はなかった。さらに 127 人を高齢者群と非高齢者群に分けて分析を行った。高齢者群の尿中 8-OHdG は、2013 年が  $16.9 \pm 7.5$  ng/mg CRE、2014 年が  $25.2 \pm 12.5$  ng/mg CRE、2015 年が  $27.5 \pm 9.5$  ng/mg CRE であった。非高齢者群では 2013 年が  $14.8 \pm 5.9$  ng/mg CRE、2014 年が  $23.1 \pm 8.7$  ng/mg CRE、2015 年が  $25.6 \pm 10.7$  ng/mg CRE であった。両群ともに 2013 年に比べ、2014 年、2015 年目は有意に高かった( $p < 0.01$ )。各年における両群の差については、有意差はなかった(図 12)。性別に関して、男性では 2013 年が  $13.9 \pm 4.6$  ng/mg CRE、2014 年が  $22.7 \pm 9.2$  ng/mg CRE、2015 年が  $26.4 \pm 9.1$  ng/mg CRE であった。女性では、2013 年が  $18.0 \pm 7.9$  ng/mg CRE、2014 年が  $25.9 \pm 12.8$  ng/mg CRE、2015 年が  $27.3 \pm 10.4$  ng/mg CRE であった。2013 年のみ、女性の尿中 8-OHdG が男性よりも有意に高かった( $p < 0.01$ )。男女ともに 2013 年に比べ、2014 年、2015 年目は有意に高かった( $p < 0.01$ )(図 13)。高齢女性群と非高齢女性群に関して、高齢女性群では 2013 年が  $18.8 \pm 7.0$  ng/mg CRE、2014 年が  $26.6 \pm 13.7$  ng/mg CRE、2015 年が  $27.8 \pm 10.3$  ng/mg CRE であった。2014 年及び 2015 年の尿中 8-OHdG はいずれも 2013 年よりも有意に高かった( $p < 0.01$ )。非高齢女性群では、2013 年が  $16.1 \pm 9.4$  ng/mg CRE、2014 年が  $24.3 \pm 10.6$  ng/mg CRE、2015 年が  $26.2 \pm 10.8$  ng/mg CRE であった。2014 年及び 2015 年の尿中 8-OHdG はいずれも 2013 年よりも



有意に高かった(2014:  $p<0.05$ , 2015:  $p<0.01$ )。高齢女性群と非高齢女性群の各年の比較では、有意差はなかった。

127 人のうち慢性疾患なしの住民の尿中 8-OHdG は、2013 年が  $14.4\pm 5.0$  ng/mg CRE、2014 年が  $21.8\pm 10.8$  ng/mg CRE、2015 年が  $26.7\pm 10.0$  ng/mg CRE であり、2014 年及び 2015 年は 2013 年よりも有意に高かった(2014:  $p<0.05$ , 2015:  $p<0.01$ )。循環器疾患のある住民では、2013 年が  $16.3\pm 7.1$  ng/mg CRE、2014 年が  $25.1\pm 12.2$  ng/mg CRE、2015 年が  $27.0\pm 10.4$  ng/mg CRE であった。糖尿病のある住民では、2013 年が  $16.3\pm 6.7$  ng/mg CRE、2014 年が  $23.8\pm 12.4$  ng/mg CRE、2015 年が  $29.3\pm 12.7$  ng/mg CRE であった。その他の疾患のある住民では、2013 年が  $17.5\pm 8.0$  ng/mg CRE、2014 年が  $24.5\pm 10.6$  ng/mg CRE、2015 年が  $26.3\pm 9.9$  ng/mg CRE であった。循環器疾患、糖尿病、その他の疾患の群における 2014 年及び 2015 年の尿中 8-OHdG はいずれも 2013 年よりも有意に高かった( $p<0.01$ ) (図 14)。各年における慢性疾患なし及び各疾患群で有意な差はなかった。

表 2. 対象者の背景

項目		2013 年	2014 年	2015 年
対象者数	(n)	486	346	195
男性/女性	(n)	217/269	160/186	81/114
平均年齢 (歳)		$62.8\pm 18.2$	$66.5\pm 14.6$	$68.3\pm 14.8$

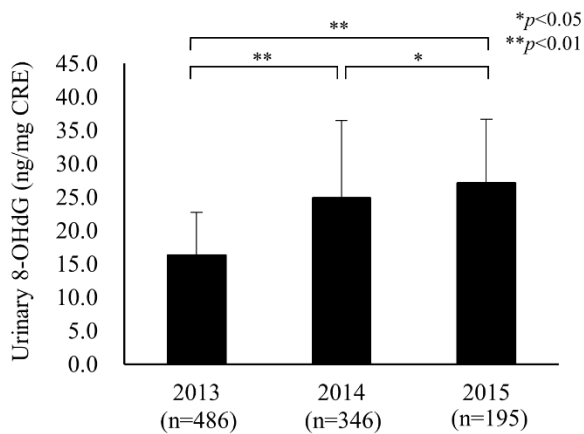


図10. 住民全体の尿中8-OHdGレベルの経年的変化

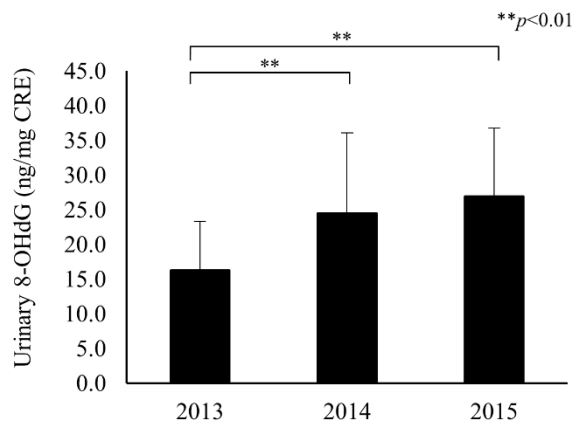


図11. 127人の尿中8-OHdGレベルの経年的変化

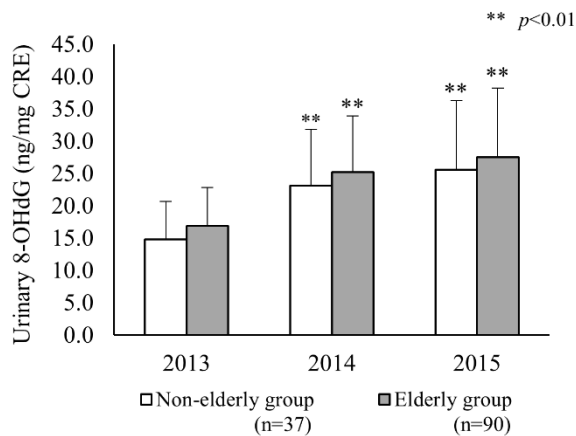


図12. 高齢者群と非高齢者群の尿中8-OHdGレベルの比較

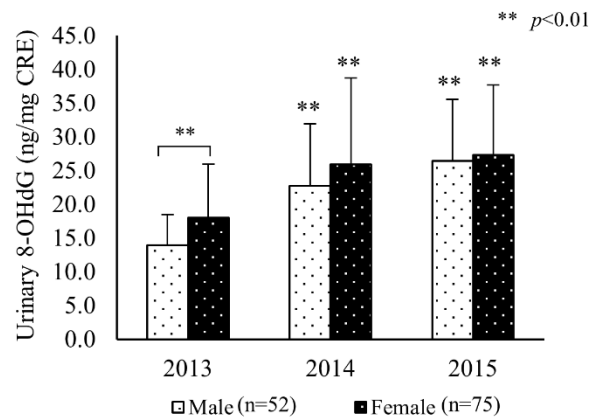


図13. 男性と女性の尿中8-OHdGレベルの比較

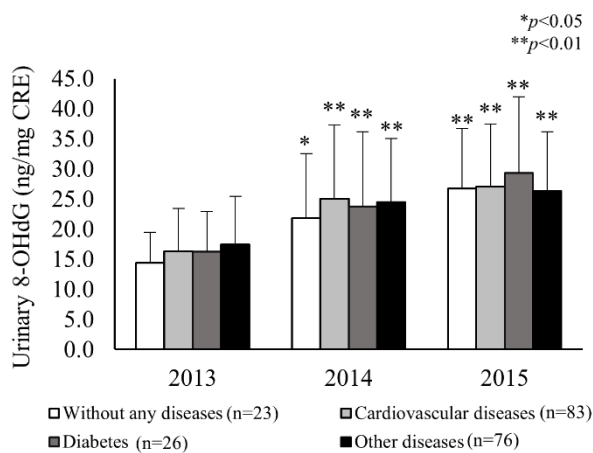


図14. 慢性疾患別による尿中8-OHdGレベルの比較

## 考 察

災害にはいくつかのフェーズあり、東日本大震災の初期には、多くの被災者が避難所や車などで過ごした。そして、被災者は心的ストレスや睡眠障害などの健康問題に直面した。さらに限られた空間での生活は血栓症のリスクの増加をもたらした。震災から数ヶ月後には、被災者は仮設住宅に移動した。このような状況におかれている被災者の心身のストレスを評価するため、尿中 8-OHdG の測定を 3 年間実施した。その結果、尿中 8-OHdG レベルは 2013 年に比べ、2014 年及び 2015 年には有意に増加した。

健常者の酸化ストレス状態に関して、これまでに Kimura ら<sup>40)</sup>は、健康な日本人ボランティア 248 人を対象に尿中 8-OHdG を ELISA kit を用いて測定している。その結果、尿中 8-OHdG は  $15.2 \pm 5.71 \text{ ng/mg CRE}$  であった。本研究では、FDNPP 事故から 2 年後に尿中 8-OHdG の測定を開始しており、初年度の尿中 8-OHdG レベルは Kimura らによって報告されている健康な日本人と同程度であった<sup>40)</sup>。また、2004 年に新潟県で中越地震が発生した際、Saito ら<sup>38)</sup>は仮設住宅に居住する 60 歳以上の高齢者 73 人を対象に酸化ストレスレベルの調査を約 1 年間行っている。彼らの研究は中越地震発生から 10 か月後に開始され、ELISA 法で尿中 8-OHdG を測定している。中越地震における被災者の尿中 8-OHdG は正常範囲に収まっていたと報告している。本研究では 2013 年に比べて 2014 年、2015 年に尿中 8-OHdG レベルが有意に増加したことから、災害発生 1~2 年後では、被災者が自然災害以外の因子によるストレスを抱えていたとしても必ずしも強度のレベル持続には繋がらないと考えられた。

本研究の対象者の年齢構成は 2、3 年目に年齢の高い人が多い構成になった。高齢者は一般的に慢性疾患の有病率が高いことから、我々は、年齢と慢性疾患が尿中 8-OHdG レベルに影響をもらしている可能性があるかと推測した<sup>7)</sup>。そこで我々は 3 年間連続して尿検体を提出した 127 人を高齢者群と非高齢者群の 2 群に分けて分析を行った。その結果、2 群間の有意差はなかった。さらに 127 人を疾患別にし、慢性疾患なし、循環器疾患あり、糖尿病あり、その他疾患ありの 4 群に分けた。その結果、慢性疾患の有無にかかわらず尿中 8-OHdG レベルは 2、3 年目に増加した。性別においても

同様の結果が得られた。これらの結果から、被災者のストレスレベルは、年齢、慢性疾患の有無、性別に関連しないことが示唆された。

本研究では、被災住民の預託実行線量は 1mSv を超えておらず、放射線自体の身体的影響を考慮する必要はなかった。しかし、放射線災害の特異性が、大きな心理社会的影響をもたらした。被災者は放射線性降下物がもたらす被ばくの身体的リスクや食の安全性の懸念、雇用、社会の繋がりの喪失がもたらされた。さらには、以前住んでいた町・家で生活することの困難さが時間の経過とともに明白となり、いつ帰還できるかわからないといった不安・不満が強いものとなった<sup>41, 42)</sup>。放射線災害による被災者は他の自然災害とは異なるストレスを抱えており、身体的、心理的ストレスの増加を促進させたと考えられる。ストレスによって生体が刺激された場合、大脳皮質や大脳辺縁系を經由して視床下部に情報伝達され、情動が引き起こされる。そして、ストレス反応系である「視床下部－交感神経－副腎髄質系 (SAM 系)」と「視床下部－下垂体前葉－副腎皮質系 (HPA 系)」を活性化させる。SAM 系が活性化されるとドーパミンやアドレナリン、ノルアドレナリンが血液中に放出され、血糖上昇、代謝亢進、血圧上昇、闘争状態などがもたされる。一方、HPA 系が活性化されると血液中に糖質コルチコイドが放出され、血圧上昇、糖新生の促進、免疫抑制などがもたらされる。これらの自律神経系と内分泌系がストレス応答に関わるとされている。糖質コルチコイドであるコルチゾールの分泌量が増えると、視床下部及び下垂体に対してネガティブフィードバックされ、コルチゾールの分泌が抑制されるように制御される<sup>22, 43)</sup>。しかし、過剰なストレスにより血中コルチゾールが増加し、コルチゾール濃度の高い状態が持続することで T リンパ球の減少などが生じ、また、タンパク質の一種であり、神経細胞の発生や成長、維持や再生を促す脳由来神経栄養因子の働きが抑制される<sup>44)</sup>。この脳由来神経栄養因子は、うつ病やアルツハイマー型認知症などの精神疾患で減少することが知られている。さらに、慢性的なストレスにより交感神経が活性化されることで脳内の特定の血管に免疫細胞が侵入し、微小炎症が引き起こされることにより、消化管や心臓の機能低下が生じると報告されている<sup>45)</sup>。本研究では尿中 8-OHdG 以外の変化について確認していないため、精神的ストレスと酸化ストレスの関連については先行研究か

らの推察にとどまるが、心身のストレスが慢性化することにより、生体内の機能低下や不調をもたらし、酸化ストレスレベルの上昇に繋がると考えられた。

これまでに運動介入や運動介入と手芸や工芸の軽作業を組み合わせたプログラムの介入の実績については報告があり<sup>46,47)</sup>、井瀧ら<sup>47)</sup>は、これらの実施が健康感の改善、身体活動量増加、さらには認知機能低下予防につながると期待されることを報告している。避難生活が長引くにつれて、尿中 8-OHdG 値が上昇したことを考慮すると、被災住民がストレス軽減できるような機会を提供し、心身の健康を悪化させないように介入していくことは大切であると考ええる。

震災から 6 年がたった今、生活再建のために建設されてきた復興公営住宅が各地で完成している。研究で調査を行った仮設住宅は、現時点ですでに閉鎖されているため被災住民の酸化ストレスマーカー測定は継続困難な状況となった。そのため本研究を 3 年という期間を以て終了した。本研究では、酸化ストレスマーカーとして尿中 8-OHdG のみを測定し、被災者の意向から詳細な臨床情報は得られなかった。しかし、稀な原子力災害に関連したデータであり、重要な結果であると考ええる。

FDNPP 災害後、尿中 8-OHdG を用いて仮設住宅に居住する被災住民の酸化ストレスレベルを評価した結果、居住期間の長さによってストレスが増大した。よって、仮設住宅での生活期間の長さが心身のストレスレベルに影響していると考えられた。

### 研究 3

ストレス軽減に対するアプローチ:

放射線治療を受けた乳がん患者の長期間のトマトジュース飲用

#### 序 論

がん患者は心理的ストレスが大きく<sup>48)</sup>、放射線治療などのがん治療によって、身体的ストレスが負荷される。放射線治療は生体に放射線を照射することで細胞の DNA を傷害する。放射線治療には 2 つの効果があり、30%は放射線が直接ターゲットを電離する直接効果、その他 70%は間接効果である。間接効果は、放射線が体内の約 60～80%を占める水に作用して活性酸素種 (ROS: Reactive oxygen species) を産生し<sup>49)</sup>、DNA を損傷することで発現する。生体内では ROS により抗腫瘍効果がもたらされるが、一方で ROS は非特異的に反応する特徴がある。そのため、ROS 産生が過剰となった場合、DNA、脂質、蛋白質、酵素などの生体高分子と反応し、正常な細胞の機能障害やがん化を引き起こすとされる<sup>50)</sup>。放射線治療による有害事象の一つに放射線皮膚炎があり、金子ら<sup>51)</sup>は酸化反応物の上昇と放射線皮膚障害の程度が密接に関係することを報告している。放射線治療で照射された部位では、熱感や紅斑、乾燥、色素沈着などの放射線皮膚炎が生じる。放射線治療を受ける患者の多くの人がこのような症状を経験すると言われている<sup>52)</sup>。特に乳がん患者は接線照射が行われるため、皮膚表面の線量が高くなりやすく、放射線皮膚炎が生じやすい<sup>53)</sup>。また、照射野に乳房下部及び腋窩も含まれるため、腕の動きによる摩擦や衣類の質感及び種類、発汗の蓄積、乳房の大きさが放射線皮膚炎のリスク増加の要因となる<sup>54)</sup>。放射線皮膚炎の程度によっては、掻痒感や疼痛がもたらされ、照射野の皮膚状態を考慮した衣類の変更、睡眠の質の低下、精神的苦痛を経験することになる<sup>55)</sup>。そのため、放射線皮膚炎の悪化予防が求められている。

近年の報告では、トマトジュースの連日飲用が放射線によるヒトリンパ球の DNA 損傷を軽減し得ると報告されている<sup>56)</sup>。また、インビトロ及び動物実験でリコピンが電離放射線によってもたらされるダメージを防御し得ることが示されており、がん放射線治療による有害事象軽減に役立つ可能性が示唆されている<sup>57)</sup>。

そこで、放射線皮膚炎の悪化防止のアプローチとして、リコピンに着目した。リコピンは、カロテノイドの一つであり、トマトに含まれる色素成分である。リコピンを手軽に摂取する方法として、トマトジュースの飲用があげられる。なぜなら、リコピンは、新鮮なトマトよりも加熱処理をしたトマト製品からの方が体内に吸収されやすく、また利用されやすいと報告されており<sup>58, 59)</sup>、これは、熱処理をすることにより、フードマトリックスの構造的破壊が引き起こされ、フードマトリックスからカロテノイドが遊離されるためである<sup>59, 60)</sup>。トマトジュースには、リコピンだけでなく、 $\beta$ -カロテンやルテインなどの抗酸化物質も含まれている。先行研究では、カロテノイドが循環器疾患やメタボリックシンドローム、がんなどの慢性疾患のリスク減少に関連することが報告されており、カロテノイドの摂取が健康に有益な効果をもたらすといわれている<sup>9, 61)</sup>。リコピンについては、がんの増殖を阻害することも報告されている<sup>57)</sup>。また、リコピンはROSの一つである一重項酸素を消去する能力が強いことが特徴の一つである。その強さは、 $\beta$ -カロテンの2倍、 $\alpha$ -トコフェノールの100倍といわれている<sup>62)</sup>。トマトジュースの飲用によって、酸化ストレス状態や皮膚状態の悪化予防及び回復が促進される場合、放射線治療を受けるがん患者のQOLの維持や早期改善に寄与することができると考える。上記で述べたようにリコピン・抗酸化物質とがんのリスク減少との関連、トマトジュースと酸化ストレスレベルの減少<sup>14)</sup>に関する研究は見られる。しかし、我々が知る限り、リコピンと放射線皮膚炎に関する研究は過去に報告がなく、リコピンの放射線防護に関する研究も少ない状況である<sup>63, 64)</sup>。

本研究では、放射線治療を受けた乳がん患者の長期間のトマトジュース飲用が酸化ストレス状態及び皮膚状態に与える影響を検討した。放射線皮膚炎の一般的な評価は医師による皮膚状態の視覚的な判断であるが、本研究においては、その評価方法に加え、客観的かつ定量的な評価指標として、照射野の皮膚表面温及び皮膚水分量の測定も行った。

## 方 法

### 1. 対象

本研究の対象は、2013年10月から2017年3月までに乳房温存手術後及び乳房全摘出術後に放射線治療を受けた乳がん患者 35 人である。対象者に、放射線治療終了日の翌日から、市販のトマトジュースを1日に1缶(リコピン含量:16mg/160g)継続飲用することを依頼した。ただし、飲用の諾否、期間については患者の選択に委ね、飲用期間は最長で6ヶ月とした。トマトジュースは、食塩無添加のトマトジュースを提供し、1か月30缶とした。トマトジュース飲用に同意した対象者は35人中32人であった。3人は、非飲用者として本研究に参加した。トマトジュース飲用者の中で、1ヶ月間に25本以上飲用かつ放射線治療の終了の週(End)のリコピン濃度でトマトジュース飲用1か月後(1M)のリコピン濃度を除した比が1.0以上の者を選定した。3か月後(3M)及び6か月後(6M)についても同様に選定したが、リコピン濃度の消費の可能性を考慮し、放射線治療終了時との比が1.0未満の患者も対象とした。上述の基準に満たなかった対象者7人を除外し、残った25人をトマトジュース飲用者(TJ群)とした。また、非飲用者3人のうち1人はデータ欠損が多いため除外した。したがって、TJ群25人と非飲用者2人、合計27人を解析対象とした。対象者の背景を表3に示した。

対象者の平均年齢は、 $60.4 \pm 10.4$ 歳であった。TJ群において、飲用開始から1か月後にトマトジュースを飲用していた対象者は25/25人、3か月後では23/25人、6か月後では22/25人であった。なお、本研究の参加期間中に放射線肺臓炎を発症した患者1人及びトマトジュースの飲用1か月のみの患者1人を治療3か月後以降の解析から除外し、また、腫瘍の転移が認められた患者1人は治療6か月後の解析から除外した。放射線治療中及び終了時から1Mまでの期間、保湿軟膏を使用しなかった患者は、全体で16人であり、いずれもTJ群であった。



表 3. 対象者の背景		(n)
Stage	0	4
	I	7
	IA	1
	II	1
	II A	7
	II B	2
	III A	4
	IV	1
Intrinsic Subtype	Luminal A	8
	Luminal B	12
	TNBC	5
	HER-2	1
	判定不可	1
Performance Status	0	26
	1	1
併用療法	化学療法	4
	ホルモン療法	13
	化学療法+ホルモン療法	8
術式	乳房温存手術	24
	乳房全摘出術	3

TNBC5 人のうち 2 人は対象者の意向及び医師の判断により、化学療法は行われなかった。

## 2. 放射線治療

本研究の対象者は、乳房温存手術及び乳房全摘出術の後に放射線治療を行った患者である。放射線治療は linear accelerator(CLINAC-iX, Varian Medical Systems, CA, USA)を使い、4MV 及び 10MV の X 線による接線照射で行われた。通常分割照射(2Gy/回、週 5 回、計 25 回)を用い、総標的線量は 50Gy/25 回であった。対象者のうち 2 人には電子線による局所ブースト照射(16Gy/8 回)が追加された。

## 3. トマトジュース

トマトジュースを選択した理由は、トマトジュースはリコピン含有量が多く、常温で保存が可能であり、毎日一定量のリコピン摂取が期待できるからである。本研究で使用したトマトジュース 1 缶 160g あたりの栄養成分(表示値)とカロテノイド成分の濃度(分析値)を表 4 に示した。

表 4. トマトジュースに含まれる栄養成分とカロテノイド成分

A. 栄養成分			B. カロテノイド成分 (mg)	
エネルギー	(kcal)	32	ルテイン	0.11±0.0009
たんぱく質	(g)	1.3	β-クリプトキサンチン	0.03±0.0007
脂質	(g)	0	α-カロテン	0.09±0.0013
糖質	(g)	6.1	β-カロテン	0.29±0.0028
食物繊維	(g)	1.1	リコピン	19.34±0.541
ナトリウム	(mg)	1-18		
カルシウム	(mg)	11		
カリウム	(mg)	460		
ショ糖	(g)	0		
食塩相当量	(g)	0		

#### 4. トマトジュース飲用の確認及び緑黄色野菜摂取量、サプリメント、抗酸化飲料の状況の記録

TJ 群に対しては、トマトジュースの飲み忘れを確認するために、飲用期間中にチェックリストに飲用の有無の記載を依頼した。また、全対象者において、飲用期間中の6か月間、緑黄色野菜の摂取状況の記録を依頼した。1日に摂取した緑黄色野菜の量として、片手に乗る量を○、片手以上の量を◎、片手以下の量を△とした。○を1点、◎を2点、△を0点とし、計算した。さらに、抗酸化作用のあるサプリメントの摂取の有無、野菜100%ジュースやトマトミックスジュース、青汁などの抗酸化飲料の飲用の有無についても確認した。

#### 5. Carotenoids の測定

トマトジュースの飲用によって吸収されたカロテノイド濃度による変化を知るため、カロテノイド濃度を測定した。測定ポイントは放射線治療開始前又は照射開始日(Baseline)、治療3週目(3w)、End、1M、3M、6Mに実施した。

血中カロテノイドの測定は、Nakamuraら<sup>56)</sup>が以前に報告した手順と同様にHPLC法で測定した。報告された手順と同様に血清サンプルを処理した後、カロテノイド抽出プロセスを繰り返し、上清を回収した。血清サンプルを濃縮し、ヘキサン、アセトン、エタノール、トルエン溶液を200 $\mu$ lに溶解し、フィルターでろ過した。その後、C30カロテノイドカラムを付したHPLCによって血清カロテノイド濃度を分析した。なお検出は、SPD-M10vpダイオードアレイ検出器を460nmに設定し、ピークエリアを測定した。

血清カロテノイドの経時的変化については、トマトジュースに特に多く含まれているリコピンに加え、血中濃度の高いルテイン、 $\beta$ -カロテンに着目した。Heinrich<sup>65)</sup>らの先行研究によると、 $\beta$ -カロテン、リコピン、ルテインの等量混合物を12週間摂取することで、紫外線照射により誘導される紅斑が有意に抑制されると報告されている。そのため、この3種類の濃度を合算し、経時的変化を評価した。トマトジュースの飲用により吸収されたリコピン+ルテイン+ $\beta$ -カロテン(Lyc+Lut+ $\beta$ -caro)濃度が与える各指標への影響について分析するため、1M、3M、6MのLyc+Lut+ $\beta$ -caro濃度からEndのLyc+Lut+ $\beta$ -caro濃度をそれぞれ引き、Lyc+Lut+ $\beta$ -caro濃度の変化量を算出した。1M

の変化量を $\Delta\text{-Lyc+Lut}+\beta\text{-caro}(1\text{M})$ 、3Mの変化量を $\Delta\text{-Lyc+Lut}+\beta\text{-caro}(3\text{M})$ 、6Mの変化量を $\Delta\text{-Lyc+Lut}+\beta\text{-caro}(6\text{M})$ と表記した。

## 6. 皮膚表面温及び皮膚水分量の測定

皮膚状態の指標として、皮膚表面温と皮膚水分量の測定を行った。測定環境については、24-25°C にエアコンで調整した。皮膚の測定は、カロテノイドの測定と同様に Baseline、3w、End、1M、3M、6M に実施した。

皮膚の測定は同一部位の変化を観察するため、乳房内で測定位置を決めた。照射側の測定位置は手術創を避け、さらに放射線治療のマーキングの無い位置を選んだ。非照射側の測定位置は、照射側の測定位置の対称になる位置にした。皮膚表面温の測定には、非接触式赤外線体温計(ビジオフォーカスプロ、Tecnimed Srl 社製、精度 $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ )を使用し、皮膚表面温を測定した。照射側及び非照射側をそれぞれ 2 回ずつ測定し、その平均値を皮膚表面温とした。皮膚水分量の測定には、Mobile Moisture HP10-N(Courage+Khazaka、ドイツ社製)を使用した。照射側及び非照射側を各 5 回ずつ測定した。測定値のばらつきを抑えるため、5 回の測定値の最高値と最低値を除いた 3 回の測定値の平均を求め、その値を皮膚水分量の値とした。照射側の乳房から非照射側の乳房の測定値を引き、皮膚表面温の差及び皮膚水分量の差を求めた。各測定ポイントの皮膚表面温の差を  $d\text{Temp}(\text{測定ポイント})$  とし、皮膚水分量の差を  $d\text{Moist}(\text{測定ポイント})$  と表記した。また、1M、3M、6M それぞれの皮膚表面温の差及び水分量の差から End の差を引き、皮膚表面温の差の変化量を算出した。それぞれ、 $\Delta\text{-dTemp}(1\text{M})$ 、 $\Delta\text{-dTemp}(3\text{M})$ 、 $\Delta\text{-dTemp}(6\text{M})$  と表記した。皮膚水分量についても 1M、3M、6M それぞれの皮膚水分量の差から End の差を引き、変化量を算出した。それぞれ、 $\Delta\text{-dMoist}(1\text{M})$ 、 $\Delta\text{-dMoist}(3\text{M})$ 、 $\Delta\text{-dMoist}(6\text{M})$  と表記した。

## 7. 放射線皮膚炎の評価

皮膚状態の評価は Common Terminology Criteria for Adverse Events(CTCAE) v4.0 を用い、診察時に医師が皮膚状態の評価を行った。放射線皮膚炎の皮膚所見なし、又は Grade1 よりも軽度と判断された場合は、Grade0 とした。

## 8. 皮膚状態の総合評価

まず、各測定ポイントの dTemp の中央値を算出し、対象者の dTemp が中央値より大きい場合を 1 点、中央値以下を 0 点とした。dMoist の値についても同様に中央値を算出し、対象者の dMoist が中央値より小さい場合を 1 点、中央値以上を 0 点とした。さらに Grade1 以上の場合を 1 点、Grade0 を 0 点した。皮膚表面温、皮膚水分量、Grade の点数を合計し、その合計点を総合評価の得点とした。

## 9. 酸化ストレスマーカーの測定

酸化ストレスマーカーとして、尿中 8-OHdG 及び d-ROMs を用いた。酸化ストレスマーカーの測定は、治療 3 週目を除き、皮膚の測定と同様の測定ポイント(Baseline、End、1M、3M、6M)で行った。酸化ストレスの日内変動を考慮して午前中に採血・採尿を依頼した。

### 1) 尿中 8-OHdG の測定

急性の放射線皮膚炎と関連し、放射線感受性に対するマーカーになり得ることが示唆されており<sup>17)</sup>、尿中 8-OHdG と MMP の関連から炎症レベルを反映するマーカーであることを我々も確認している<sup>66)</sup>。尿中 8-OHdG 値の測定は、新鮮尿サンプルを用い純水(イオン交換水)で 2 倍希釈したのち、8-OHdG およびクレアチニン(CRE)を直ちに測定し、尿中 8-OHdG は CRE 補正した値として求めた。測定手順の詳細は研究 1 に示した通りである。トマトジュースの飲用との関連を検討するにあたり、1M、3M、6M の尿中 8-OHdG/ CRE 値から End の尿中 8-OHdG/ CRE 値を引き、変化量を算出した。それぞれ、 $\Delta$ -8-OHdG(1M)、 $\Delta$ -8-OHdG(3M)、 $\Delta$ -8-OHdG(6M)と表記した。

### 2) d-ROMs の測定

d-ROMs test は、ROS などの活性された分子種によって生体内の蛋白質やアミノ酸、ペプチド、グルコシド、脂質、ヌクレオチドなどが酸化されることで産生されるヒドロペルオキシドを計測し、生体内の酸化ストレスレベルを総合的に評価するテストである<sup>67)</sup>。d-ROMs test では、Nakamura ら<sup>56)</sup>が以前に報告した試薬と同一の試薬(kit from Diacron International, Grosseto, Italy)を用い、既報に準じて測定を行った。血中ヒドロペルオキシド(ROOH)の濃度の測定には JCA-BM6070 型生化学自動分析

装置(日本電子)を用いた。トマトジュース飲用との関連を検討するにあたり、1M、3M、6Mのd-ROMs値からEndのd-ROMs値を引き、変化量を算出した。それぞれ $\Delta$ -d-ROMs(1M)、 $\Delta$ -d-ROMs(3M)、 $\Delta$ -d-ROMs(6M)と表記した。

## 10. 統計解析

データは、平均値 $\pm$ SDで示した。照射側及び非照射側の皮膚表面温及び皮膚水分量、dTemp、dMoist、8-OHdG、d-ROMs、総合評価の6時点の経時的変化に関して、線形混合モデルの解析を行った。その後の多重比較法はBonferroni法を用いた。皮膚表面温と皮膚水分量に関して、各測定ポイントにおける照射側と非照射側の比較は、対応のあるt検定を行った。酸化ストレスマーカーに対する術式の違いによる影響を検討するため、乳房全摘出術を行った3人と乳房温存手術を行った24人において、8-OHdG及びd-ROMsのBaselineについてMann-whitney検定を用いて比較した。

野菜100%ジュースやトマトミックスジュース、青汁などは抗酸化飲料とし、提供したトマトジュースとは区別する。TJ群を抗酸化飲料飲用の有無で2群に分け、抗酸化飲料飲用者をドリンク群、抗酸化飲料非飲用者を非ドリンク群とする。各測定ポイントのカロテノイド濃度、dTemp、8-OHdG、d-ROMs、総合評価の2群の比較は、2標本のt検定を行った。

放射線治療終了時のdTempと照射野のPTVの関係について、Spearmanの順位相関係数を求めた。また、TJ群の血中カロテノイドと $\Delta$ -dTemp及び $\Delta$ -dMoistの関係についてPearsonの相関係数を求めた。なお、皮膚水分量の相関分析では、軟膏が処方された対象者を分析から除外した。血中カロテノイドと緑黄色野菜の摂取の関係についてもPearsonの相関係数を求めた。血中カロテノイドと酸化ストレスマーカーの関係についてはSpearmanの順位相関係数を求めた。CTCAEによる皮膚状態の評価と治療経過との関連は、カイ2乗検定を行った。

分析は統計ソフトSPSS Statistics 22で行った。有意水準は5%未満とした。

## 11. 倫理的配慮

本研究は、弘前大学大学院保健学研究科(2014-001)及びむつ総合病院(H27-4)、カゴメ株式会社の倫理委員会(2014-R06)の承認を得て倫理基準に従って実施した。

本研究では、カゴメ株式会社がトマトジュースの提供を行い、カロテノイドの測定を担当したが、カロテノイドの測定は全てブラインド下で実施しており、利益相反はない。

## 結果

### 1. 対象者の背景

TJ群 25人、非飲用者 2人の合計 27人で解析を行った。

27人の照射容積(PTV)の平均値は  $604.5 \pm 141.6$  ccであった。非飲用者の PTV の平均値は  $664.4 \pm 30.3$  cc、TJ群は  $599.7 \pm 146.1$  ccであった。非飲用者と TJ群の PTV において、有意差はなかった。

対象者全体の緑黄色野菜摂取量の得点は、1M(n=26/27)が  $28.4 \pm 12.8$  点、3M(n=24/27)が  $28.9 \pm 15.3$  点、6M(n=12/27)が  $26.0 \pm 21.8$  点で、飲用時期による有意な違いは確認されなかった。

非飲用者の 1M の緑黄色野菜の摂取量の得点は、 $27.5 \pm 12.0$  点、3M も  $27.5 \pm 12.0$  点であった。6M はデータが得られなかった。TJ群において、1M(n=24/25)の緑黄色野菜の摂取量の得点は  $28.5 \pm 13.1$  点、3M(n=22/25)は  $29.0 \pm 15.7$  点、6M(n=12/25)は  $26.0 \pm 21.8$  点であった。

抗酸化サプリメントの摂取について、非飲用者で抗酸化サプリメントを摂取している人はいなかった。一方、TJ群では 2人が摂取していた。野菜 100%ジュースやトマトミックスジュース、青汁などの抗酸化飲料について、非飲用者では 2人とも飲用していた。TJ群では 13人が摂取していた。表 5 に緑黄色野菜の摂取量の得点及び抗酸化サプリメントの摂取の有無、抗酸化飲料の摂取の有無について示した。

表 5. 野菜・抗酸化サプリメント・抗酸化飲料の摂取状況

		全体	非飲用者	TJ群
野菜摂取量(点)	1M	$28.4 \pm 12.8$	$27.5 \pm 12.0$	$28.5 \pm 13.1$
	3M	$28.9 \pm 15.3$	$27.5 \pm 12.0$	$29.0 \pm 15.7$
	6M	$26.0 \pm 21.8$	—	$26.0 \pm 21.8$
抗酸化サプリメント	あり	2	0	2
	なし	25	2	23
抗酸化飲料	あり	15	2	13
	なし	12	0	12



## 2. カロテノイド濃度の変化

全対象者(All groups)及びトマトジュースの摂取の有無(非飲用者: Without TJ、飲用者: TJ group)の各測定ポイントでの血中カロテノイド濃度を表 6 に示した。なお、非飲用者の人数が少なかったため、群間での比較は行わなかった。

非飲用者の各測定ポイントの人数は Baseline が 1 人、3w は 0 人、End から 6M はそれぞれ 2 人であった。非飲用者の Baseline については実測値で示した。非飲用者においては、それぞれのカロテノイド濃度、また Total carotenoids 濃度、特に注目した Lyc+Lut+β-caro 濃度に有意な変化はなかった。

TJ 群の各測定ポイントの人数は、Baseline は 21 人、3w は 14 人、End は 22 人、1M は 25 人、3M は 23 人、6M は 22 人であった。

リコピン濃度について、放射線治療期間中の有意な変化はなかった。1M( $0.76 \pm 0.30 \mu\text{M}$ )、3M( $0.80 \pm 0.31 \mu\text{M}$ )、6M( $0.83 \pm 0.33 \mu\text{M}$ )のリコピン濃度は、Baseline( $0.42 \pm 0.25 \mu\text{M}$ )、3w( $0.33 \pm 0.20 \mu\text{M}$ )、End( $0.34 \pm 0.25 \mu\text{M}$ )より何れも有意に高かった(それぞれ  $p < 0.01$ )。Total carotenoids 濃度について、放射線治療期間中の有意な変化はなかった。1M( $3.05 \pm 1.14 \mu\text{M}$ ) の Total carotenoids 濃度は Baseline( $2.42 \pm 1.20 \mu\text{M}$ )、3w( $2.18 \pm 1.36 \mu\text{M}$ )、End( $2.36 \pm 1.22 \mu\text{M}$ )より有意に高かった(それぞれ  $p < 0.01$ )。3M( $2.94 \pm 1.03 \mu\text{M}$ )では、Baseline、3w、End よりも有意に高かった(Baseline, 3w:  $p < 0.01$ , End:  $p < 0.05$ )。6M( $2.95 \pm 1.21 \mu\text{M}$ )も Baseline、3w、End よりも有意に高かった(Baseline, 3w:  $p < 0.01$ , End:  $p < 0.05$ )。Lyc+Lut+β-caro 濃度について、放射線治療期間中の有意な変化はなかった。1M( $2.21 \pm 0.88 \mu\text{M}$ )、3M ( $2.23 \pm 0.80 \mu\text{M}$ )、6M ( $2.24 \pm 0.82 \mu\text{M}$ )の Lyc+Lut+β-caro 濃度は、何れも Baseline( $1.62 \pm 0.84 \mu\text{M}$ )、3w( $1.51 \pm 0.95 \mu\text{M}$ )、End( $1.50 \pm 0.89 \mu\text{M}$ )よりも有意に高かった(それぞれ  $p < 0.01$ )。

表 6. カロテノイド濃度の変化(μM)

All groups						
Catorenoid (μM)	Baseline (n=22)	3w (n=14)	End (n=24)	1M (n=27)	3M (n=25)	6M (n=24)
Lutein	0.30±0.12	0.29±0.14	0.30±0.10	0.34±0.15	0.35±0.13	0.34±0.16
β-Carotene	0.87±0.65	0.89±0.72	0.87±0.72	1.10±0.64	1.05±0.58	1.12±0.72 <sup>a, b</sup>
Lycopene	0.41±0.24	0.33±0.20	0.36±0.25	0.74±0.30 <sup>a, b, c</sup>	0.76±0.32 <sup>a, b, c</sup>	0.79±0.34 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene cis(5,9,13)	0.23±0.14	0.20±0.11	0.20±0.13	0.43±0.15 <sup>a, b, c</sup>	0.47±0.20 <sup>a, b, c</sup>	0.49±0.21 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene trans	0.18±0.11	0.14±0.09	0.16±0.13	0.32±0.16 <sup>a, b, c</sup>	0.29±0.13 <sup>a, b, c</sup>	0.30±0.14 <sup>a, b, c</sup>
Total carotenoid	2.36±1.20	2.18±1.36	2.37±1.23	3.02±1.10 <sup>a, b, c</sup>	2.86±1.03 <sup>a, b</sup>	3.01±1.33 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene+Lutein+β-Carotene	1.58±0.84	1.51±0.95	1.53±0.89	2.18±0.86 <sup>a, b, c</sup>	2.16±0.81 <sup>a, b, c</sup>	2.26±0.86 <sup>a, b, c</sup>
Without TJ						
Catorenoid (μM)	Baseline (n=1)	3w (n=0)	End (n=2)	1M (n=2)	3M (n=2)	6M (n=2)
Lutein	0.28	—	0.30±0.11	0.34±0.04	0.27±0.04	0.30±0.04
β-Carotene	0.26	—	0.97±1.10	1.06±0.56	0.78±0.49	1.70±1.80
Lycopene	0.24	—	0.57±0.04	0.49±0.02	0.32±0.16	0.39±0.07
Lycopene cis(5,9,13)	0.13	—	0.29±0.01	0.26±0.02	0.19±0.09	0.22±0.03
Lycopene trans	0.11	—	0.28±0.05	0.23±0.003	0.13±0.07	0.18±0.04
Total carotenoid	1.55	—	2.52±1.81	2.66±0.65	2.01±0.46	3.72±2.94
Lycopene+Lutein+β-Carotene	0.78	—	1.84±1.26	1.88±0.58	1.36±0.28	2.39±1.77
TJ groups						
Catorenoid (μM)	Baseline (n=21)	3w (n=14)	End (n=22)	1M (n=25)	3M (n=23)	6M (n=22)
Lutein	0.30±0.12	0.29±0.14	0.30±0.10	0.34±0.16	0.35±0.13	0.34±0.16
β-Carotene	0.90±0.65	0.89±0.72	0.86±0.71	1.10±0.66	1.08±0.58	1.05±0.61
Lycopene	0.42±0.25	0.33±0.20	0.34±0.25	0.76±0.30 <sup>a, b, c</sup>	0.80±0.31 <sup>a, b, c</sup>	0.83±0.33 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene cis(5,9,13)	0.24±0.14	0.20±0.11	0.19±0.13	0.44±0.15 <sup>a, b, c</sup>	0.50±0.18 <sup>a, b, c</sup>	0.51±0.20 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene trans	0.18±0.11	0.14±0.09	0.15±0.13	0.33±0.16 <sup>a, b, c</sup>	0.30±0.13 <sup>a, b, c</sup>	0.31±0.14 <sup>a, b, c</sup>
Total carotenoid	2.42±1.20	2.18±1.36	2.36±1.22	3.05±1.14 <sup>a, b, c</sup>	2.94±1.03 <sup>a, b, c</sup>	2.95±1.21 <sup>a, b, c</sup>
Lycopene+Lutein+β-Carotene	1.62±0.84	1.51±0.95	1.50±0.89	2.21±0.88 <sup>a, b, c</sup>	2.23±0.80 <sup>a, b, c</sup>	2.24±0.82 <sup>a, b, c</sup>

a: Baseline との比較( $p<0.05$ ) b: 3w との比較( $p<0.05$ ) c: End との比較( $p<0.05$ )

### 3. 皮膚状態の変化

非飲用者における各測定ポイントの人数は 1 人であった。TJ 群では、Baseline は 22 人、3w は 22 人、End は 22 人、1M は 22 人、3M は 21 人、6M は 20 人であった。

#### 1) 皮膚表面温

全対象者(All groups)、非飲用者(Without TJ)、TJ 群(TJ groups)の皮膚表面温の結果を表 7 に示した。非飲用者 (n=1) は実測値で示した。

照射側の乳房の皮膚表面温は、どの時点においても非照射側よりも有意に高かった(全対象者、TJ 群ともに 6 時点全てにおいて  $p<0.01$ )。照射側乳房では、3 群の何れにおいても End で最も高温となり、放射線照射により  $0.5^{\circ}\text{C}$  程度上昇したが、全般に照射前後での大きな差異は認められなかった。一方、非照射側では、6M が Baseline、End よりも有意に低かった。

全対象者、TJ 群の dTemp は、3M および 6M において Baseline よりも有意に大きかった(3M および 6M:  $p<0.01$ )。また、全体に時間の経過に従って温度差が拡大した。

表 7. 皮膚表面温の変化(°C)

All groups						
	Baseline (n=23)	3w (n=23)	End (n=23)	1M (n=23)	3M (n=22)	6M (n=21)
照射側乳房	34.9±1.6	34.9±1.1	35.3±1.7	34.7±1.6	34.9±1.2	34.3±1.0
非照射側乳房	34.4±1.9	34.1±1.5	34.4±1.8	33.8±1.6	33.7±1.6	32.9±1.4 <sup>a, c</sup>
照射側と非照射側の差 (dTemp)	0.5±0.6	0.8±0.7	1.0±0.8	0.9±0.8	1.2±0.8 <sup>a</sup>	1.4±1.0 <sup>a, b</sup>
Without TJ						
	Baseline (n=1)	3w (n=1)	End (n=1)	1M (n=1)	3M (n=1)	6M (n=1)
照射側乳房	36.9	35.4	37.2	35.6	34.9	34.2
非照射側乳房	36.7	34.0	36.1	35.4	34.2	32.6
照射側と非照射側の差 (dTemp)	0.2	1.5	1.2	0.3	0.7	1.6
TJ groups						
	Baseline (n=22)	3w (n=22)	End (n=22)	1M (n=22)	3M (n=21)	6M (n=20)
照射側乳房	34.8±1.6	34.9±1.1	35.3±1.6	34.7±1.6	34.9±1.2	34.3±1.0
非照射側乳房	34.3±1.9	34.1±1.5	34.3±1.8	33.7±1.6	33.7±1.7	32.9±1.4 <sup>a, c</sup>
照射側と非照射側の差 (dTemp)	0.5±0.6	0.8±0.7	1.0±0.9	1.0±0.8	1.2±0.9 <sup>a</sup>	1.4±1.1 <sup>a, b</sup>

a: Baseline との比較( $p<0.05$ )、b: 3w との比較( $p<0.05$ )、c: End との比較( $p<0.05$ )

\*\*  $p<0.01$

## 2) 皮膚水分量

各測定ポイントにおける人数のうち、治療期間中及び治療終了時から治療 1 か月後までにステロイド軟膏及び保湿軟膏を使用した対象者は、非飲用者では 1 人、TJ 群では 8 人であった。1 か月から 3 か月の間では、非飲用者が 1 人、TJ 群が 15 人であった。3 か月から 6 か月では、非飲用者 1 人、TJ 群 15 人であった。軟膏が水分量に影響を与えたと考え、TJ 群から軟膏使用者を除外し、軟膏の使用なしの患者群での分析も行った。全対象者(All groups)、非飲用者(Without TJ)、TJ 群(TJ groups)、TJ 群(軟膏の使用なし)の皮膚水分量の結果を表 8 に示した。なお、非飲用者は実測値で示した。

TJ 群のうち軟膏なしの対象者における照射側の乳房の水分量は、3w(32.7±15.1 a.u.)、End(21.3±11.4a.u.)、1M(24.0±10.5a.u.)が Baseline(43.9±10.6a.u.)よりも有意に少なかった(それぞれ  $p<0.01$ )。また、End の照射側の乳房の水分量は 3w よりも有意

に少なかった( $p<0.05$ )。一方、3M( $34.6\pm 10.7$ a.u.)、6M( $45.5\pm 5.8$ a.u.)の照射側の乳房の水分量は、Endよりも有意に多かった(3M:  $p<0.05$ , 6M:  $p<0.01$ )。6Mの照射側の乳房の水分量は1Mよりも有意に多かった( $p<0.01$ )。Baselineにおける照射側と非照射側の水分量に有意差はなかったが、放射線の照射により照射側の乳房の水分量は有意に低下し、照射終了後に元の水分量に戻ることが確認された。

TJ群のうち軟膏なしの対象者の非照射側の乳房における6M( $64.3\pm 8.7$ a.u.)の水分については、Baseline( $44.2\pm 10.6$ a.u.)、3w( $39.6\pm 11.7$ a.u.)、End( $37.3\pm 12.2$ a.u.)、1M( $43.2\pm 11.2$ a.u.)、3M( $40.4\pm 8.8$ a.u.)よりも有意に多かった(それぞれ $p<0.01$ )。

TJ群のうち軟膏なしの対象者の照射側と非照射側の差は、End( $-16.0\pm 10.0$ a.u.)、1M( $-19.2\pm 12.8$ a.u.)、6M( $-18.9\pm 10.8$ a.u.)がBaseline( $-0.3\pm 8.7$ a.u.)よりも有意に大きかった(それぞれ $p<0.01$ )。dMoist(End)、dMoist(1M)はdMoist(3w)( $-6.9\pm 8.5$ a.u.)よりも大きかった(End:  $p<0.05$ , 1M:  $p<0.01$ )。

TJ群のうち軟膏なしの対象者の照射側と非照射側の水分量の比較について、Baselineで有意差はなかった。3wから6Mまでの5時点では照射側の皮膚水分量が非照射側よりも有意に少なかった(3w、End、1M:  $p<0.01$ , 3M、6M:  $p<0.05$ )。

表 8. 皮膚水分量の変化(a.u.)

All groups						
	Baseline (n=23)	3w (n=23)	End (n=23)	1M (n=23)	3M (n=22)	6M (n=21)
照射側乳房	43.9±10.4	33.1±14.5 <sup>a</sup>	21.0±10.6 <sup>a, b</sup>	29.3±14.7 <sup>a</sup>	37.7±12.3 <sup>b</sup>	41.4±13.9 <sup>b, d</sup>
非照射側乳房	44.4±10.4	39.4±11.2 <sup>]</sup> **	37.3±11.8 <sup>]</sup> **	43.4±12.8 <sup>]</sup> **	48.1±10.1 <sup>c</sup> <sup>]</sup> **	53.6±15.8 <sup>b, c, d</sup> <sup>]</sup> **
照射側と非照射側の差 (dMoist)	-0.5±8.6	-6.4±8.7 <sup>a</sup>	-16.3±10.0 <sup>a, b</sup>	-14.1±13.8 <sup>a</sup>	-10.5±8.7 <sup>a</sup>	-12.1±12.4 <sup>a</sup>
Without TJ						
	Baseline (n=1)	3w (n=1)	End (n=1)	1M (n=1)	3M (n=1)	6M (n=1)
照射側乳房	43.7	43.0	18.7	35.3	27.0	28.0
非照射側乳房	48.3	34.7	46.3	27.0	56.0	63.7
照射側と非照射側の差 (dMoist)	-4.7	8.3	-27.7	8.3	-29.0	-35.7
TJ groups						
	Baseline (n=22)	3w (n=22)	End (n=22)	1M (n=22)	3M (n=21)	6M (n=20)
照射側乳房	43.9±10.6	32.6±14.7 <sup>a</sup>	21.1±10.9 <sup>a, b</sup>	29.0±15.0 <sup>a</sup>	38.2±12.4 <sup>c</sup>	42.1±13.9 <sup>c, d</sup>
非照射側乳房	44.2±10.6	39.7±11.4 <sup>]</sup> **	36.8±11.9 <sup>]</sup> **	44.1±12.6 <sup>]</sup> **	47.8±10.2 <sup>c</sup> <sup>]</sup> **	53.1±16.1 <sup>b, c</sup> <sup>]</sup> *
照射側と非照射側の差 (dMoist)	-0.3±8.7	-7.0±8.3 <sup>a</sup>	-15.8±9.9 <sup>a, b</sup>	-15.1±13.2 <sup>a, b</sup>	-9.6±7.9 <sup>a</sup>	-11.0±11.5 <sup>a</sup>
TJ groups (軟膏の使用なし)						
	Baseline (n=22)	3w (n=21)	End (n=20)	1M (n=14)	3M (n=6)	6M (n=5)
照射側乳房	43.9±10.6	32.7±15.1 <sup>a</sup>	21.3±11.4 <sup>a, b</sup>	24.0±10.5 <sup>a</sup>	34.6±10.7 <sup>c</sup>	45.5±5.8 <sup>c, d</sup>
非照射側乳房	44.2±10.6	39.6±11.7 <sup>]</sup> **	37.3±12.2 <sup>]</sup> **	43.2±11.2 <sup>]</sup> **	40.4±8.8 <sup>c</sup> <sup>]</sup> *	64.3±8.7 <sup>a, b, c, d, e</sup> <sup>]</sup> *
照射側と非照射側の差 (dMoist)	-0.3±8.7	-6.9±8.5	-16.0±10.0 <sup>a, b</sup>	-19.2±12.8 <sup>a, b</sup>	-5.8±4.8	-18.9±10.8 <sup>a</sup>

a: Baselineとの比較( $p < 0.05$ ) b: 3wとの比較( $p < 0.05$ ) c: Endとの比較( $p < 0.05$ )

d: 1Mとの比較( $p < 0.05$ ) e: 3Mとの比較( $p < 0.05$ )

\*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$

### 3) CTCAE の Grade 評価

TJ群の Grade 評価の結果を表 9 に示した。TJ群 25 人において Baseline の Grade1 の人数が 0 人であったが、放射線照射により Grade1 の人数が増え、End では 13 人と、Baseline と比較して有意な増加を示した( $p<0.01$ )。また、1M では 0 人に低下し、End に比較して有意な減少を示した( $p<0.01$ )。

表 9. Grade 評価

	Baseline	3w	End	1M
Grade 0	25	22	12	25
Grade 1	0	3	13**	0**

\*\* $p<0.01$

### 4) 総合評価

表 10 に TJ 群の総合評価を示した。総合評価では、軟膏を使用している対象者も含めて評価した。Baseline の総合評価は  $1.00\pm 0.8$  点、3w が  $0.86\pm 0.9$  点、End が  $1.59\pm 0.9$ 、1M が  $1.09\pm 0.7$  点、3M が  $0.95\pm 0.7$  点、6M が  $0.85\pm 0.7$  点であった。End の得点が最も高く、6M で最も低かった。End の得点は Baseline 及び 3w より有意に高かった(Baseline:  $p<0.05$ , 3w:  $p<0.01$ )。また、3M と 6M の得点は End より有意に低かった(それぞれ  $p<0.05$ )。

表 10. 総合評価 (点)

	Baseline (n=22)	3w (n=22)	End (n=22)	1M (n=22)	3M (n=21)	6M (n=20)
総合評価	$1.00\pm 0.8$	$0.86\pm 0.9$	$1.59\pm 0.9^{a, b}$	$1.09\pm 0.7$	$0.95\pm 0.7^c$	$0.85\pm 0.7^c$
Grade	0.00	$0.09\pm 0.3$	$0.55\pm 0.5$	0.00	0.00	0.00
dTemp	$0.55\pm 0.5$	$0.36\pm 0.5$	$0.50\pm 0.5$	$0.55\pm 0.5$	$0.48\pm 0.5$	$0.45\pm 0.5$
dMoist	$0.45\pm 0.5$	$0.41\pm 0.5$	$0.55\pm 0.5$	$0.55\pm 0.5$	$0.48\pm 0.5$	$0.40\pm 0.5$

a: Baseline との比較( $p<0.05$ ) b: 3w との比較( $p<0.05$ ) c: End との比較( $p<0.05$ )

#### 4. PTV と皮膚表面温の差との相関

PTV と dTemp(End) の相関を、非飲用者及び TJ 群を合わせた 23 人で分析した結果、 $r=0.585$  で、有意な相関が認められた( $p<0.01$ )(図 15)。

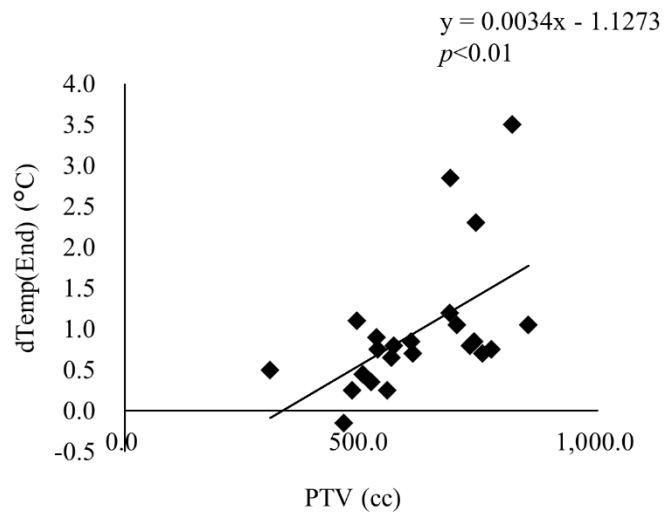


図 15. PTV と dTemp(End) との相関



## 5. 酸化ストレス状態の変化

### 1) 酸化ストレス状態に対する術式の違いによる影響

8-OHdG については、乳房温存手術が 16 人、乳房全摘出術が 3 人であった。乳房温存手術を行った患者の Baseline の 8-OHdG 値は  $27.5 \pm 12.3$  ng/mg CRE であり、乳房全摘出術を行った患者では  $18.8 \pm 0.9$  ng/mg CRE であった。

d-ROMs については、乳房温存手術が 18 人、乳房全摘出術が 2 人であった。乳房温存手術を行った患者の Baseline の d-ROMs 値は  $387.2 \pm 54.6$  CARR U であり、乳房全摘出術を行った患者では  $432 \pm 14.1$  CARR U であった。いずれのマーカーにおいても術式の違いによる有意差はなかった。

### 2) 尿中 8-OHdG

全対象者(All groups)、非飲用者(Without TJ)、TJ 群(TJ groups)の尿中 8-OHdG の結果を表 11 に示した。非飲用者における各測定ポイントの人数は Baseline が 1 人、End から 6M は 2 人であった。Baseline は実測値とした。TJ 群では Baseline は 18 人、End は 20 人、1M は 25 人、3M は 23 人、6M は 22 人であった。TJ 群の尿中 8-OHdG 値は、Baseline( $26.0 \pm 12.0$  ng/mg CRE)、End( $25.4 \pm 7.4$  ng/mg CRE)、1M( $28.3 \pm 13.0$  ng/mg CRE)、3M( $30.0 \pm 17.9$  ng/mg CRE)、6M( $22.3 \pm 12.1$  ng/mg CRE)であった。いずれも放射線治療前後における群内での尿中 8-OHdG の有意差は確認されなかった。また、TJ 群においても有意な経時的変化はなかった。

表 11. 尿中 8-OHdG レベル(ng/mg CRE)

	Baseline	End	1M	3M	6M
All groups	n=19 $26.1 \pm 11.7$	n=22 $25.6 \pm 7.2$	n=27 $27.6 \pm 12.9$	n=25 $29.3 \pm 17.3$	n=24 $22.6 \pm 11.9$
Without TJ	n=1 28.1	n=2 $27.2 \pm 5.3$	n=2 $18.0 \pm 6.9$	n=2 $21.4 \pm 3.7$	n=2 $26.2 \pm 12.4$
TJ groups	n=18 $26.0 \pm 12.0$	n=20 $25.4 \pm 7.4$	n=25 $28.3 \pm 13.0$	n=23 $30.0 \pm 17.9$	n=22 $22.3 \pm 12.1$

### 3) d-ROMs

全対象者(All groups)、非飲用者(Without TJ)、TJ群(TJ groups)の d-ROMs の結果を表 12 に示した。

非飲用者における各測定ポイントの人数は Baseline が 1 人、End は 2 人、1M は 2 人、3M は 2 人、6M は 2 人であった。よって Baseline は実測値とした。TJ 群では Baseline が 19 人、End は 21 人、1M は 25 人、3M は 21 人、6M は 15 人であった。TJ 群の d-ROMs 値は、Baseline( $396.8 \pm 49.6$ CARR U)、End( $371.9 \pm 64.6$ CARR U)、1M( $414.8 \pm 90.9$ CARR U)、3M( $426.9 \pm 74.7$ CARR U)、6M( $422.0 \pm 97.5$ CARR U)であった。d-ROMs を経時的に比較したところ、3M の d-ROMs 値は End の値よりも有意に高かった( $p < 0.05$ )。

表 12 . d-ROMs (CARR U)

	Baseline	End	1M	3M	6M
All groups	n=20 391.7±53.6	n=23 373.5±62.9	n=27 414.1±88.7	n=23 427.8±72.0 <sup>a</sup>	n=17 421.6±91.2
Without TJ	n=1 293.0	n=2 390.5±54.4	n=2 406.0±79.2	n=2 438.0±48.1	n=2 419.0±4.2
TJ groups	n=19 396.8±49.6	n=21 371.9±64.6	n=25 414.8±90.9	n=21 426.9±74.7 <sup>a</sup>	n=15 422.0±97.5

a: End との比較( $p < 0.05$ )

## 6. 抗酸化飲料の飲用が与える影響

TJ 群を抗酸化飲料飲用の有無でドリンク群と非ドリンク群の 2 群に分け、抗酸化飲料の影響について検討した。各測定ポイントのリコピン濃度、Lyc+Lut+β-carotene 濃度及び Total carotenoids 濃度は、何れも有意の変化を示さなかった。しかし、リコピン濃度では、6M でドリンク群(n=12,  $0.94 \pm 0.3 \mu\text{M}$ )は、非ドリンク群(n=10,  $0.69 \pm 0.3 \mu\text{M}$ )よりも高い傾向にあった( $p=0.071$ )。また、Lyc+Lut+β-carotene 濃度では、3w でドリンク群の(n=7,  $2.00 \pm 1.1 \mu\text{M}$ )が非ドリンク群( $1.04 \pm 0.5 \mu\text{M}$ )よりも高い傾向があった( $p=0.062$ )。Total carotenoids 濃度では、3w でドリンク群(n=7,  $2.90 \pm 0.6 \mu\text{M}$ )が非ドリンク群(n=7,  $1.47 \pm 0.6 \mu\text{M}$ )よりも高い傾向にあった( $p=0.055$ )。

尿中 8-OHdG 及び d-ROMs について、有意差はなかった。6M における皮膚表面温の温度差でドリンク群の dTemp(6M)(n=11,  $0.88 \pm 0.5^\circ\text{C}$ )は、非ドリンク群(n=10,  $1.87 \pm 1.3^\circ\text{C}$ )よりも有意に低かった( $p < 0.05$ )。

7.  $\Delta$ -Lyc + Lut +  $\beta$ -caro 濃度と緑黄色野菜摂取量の得点との相関

$\Delta$ -Lyc + Lut +  $\beta$ -caro(6M)と 6M の緑黄色野菜摂取量の得点との間で有意な相関を認めた( $r=0.70, p<0.05$ )。1M 及び 3M では相関は認められなかった(図 16)。

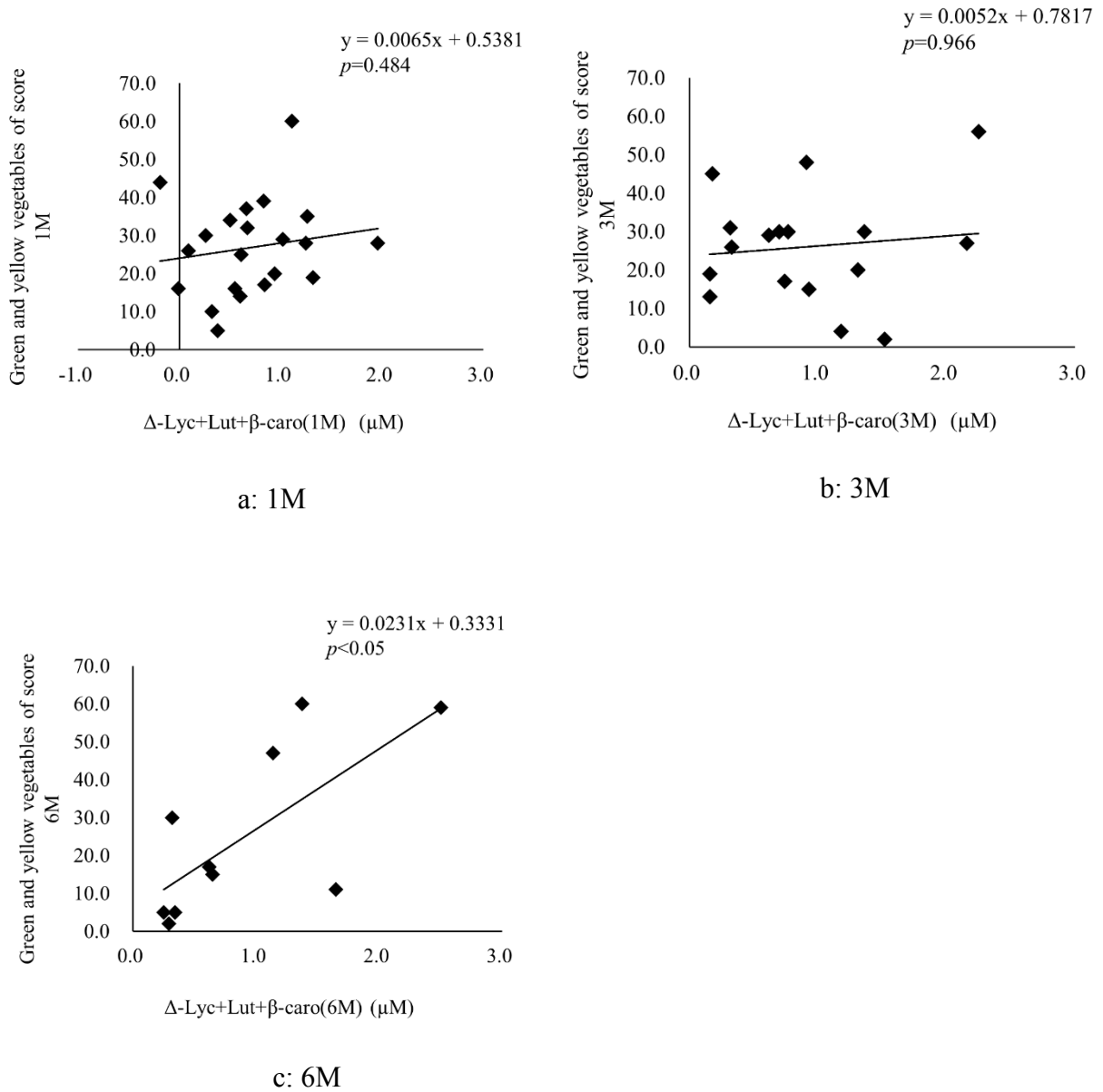


図 16.  $\Delta$ -Lyc + Lut +  $\beta$ -caro 濃度と緑黄色野菜摂取量の得点との相関

## 8. $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro 濃度と皮膚状態の相関

$\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro(1M)と  $\Delta$ -dMoist(1M)の間で有意な相関を認めた( $r=0.616$ ,  $p<0.01$ )。さらに、ステロイド軟膏及び保湿剤の影響を考慮し、TJ 群からステロイド軟膏及び保湿剤が処方された対象者を除外して、相関分析を行った。保湿剤の使用なしの TJ 飲用者においても、 $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro(1M)と  $\Delta$ -dMoist(1M)の間で同様に強い相関を認めた( $r=0.661$ ,  $p<0.05$ )(図 17)。 $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro(6M)と  $\Delta$ -dTemp(6M)の間では、有意な相関は認められなかった( $r=-0.465$ ,  $p=0.052$ )(図 18)。

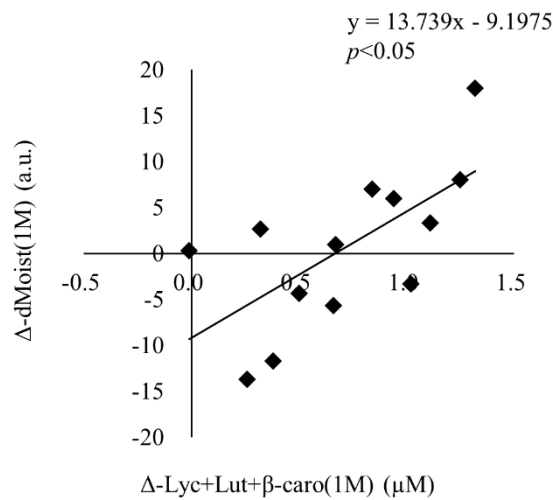


図 17.  $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro(1M)と  $\Delta$ -dMoist(1M)の相関  
保湿剤の使用なしの TJ 飲用者との相関を示した。

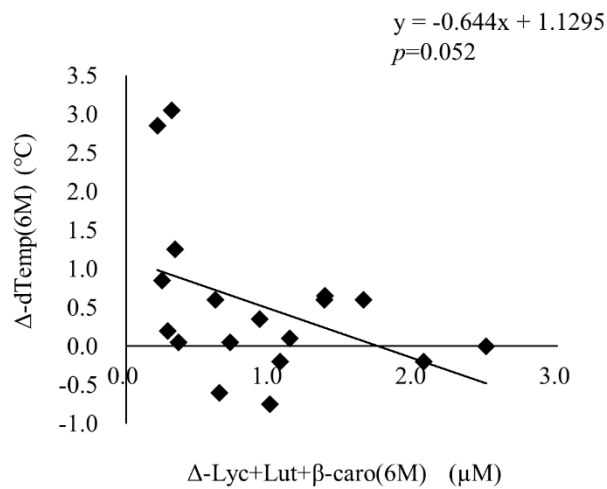


図 18.  $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro(6M)と  $\Delta$ -dTemp(6M)の相関

### 9. Lyc+Lut+β-carotene 濃度と尿中 8-OHdG の相関

1M における Lyc+Lut+β-carotene 濃度と尿中 8-OHdG レベルの間で有意な逆相関を認められた( $r = -0.451$ ,  $p < 0.05$ ) (図 19)。

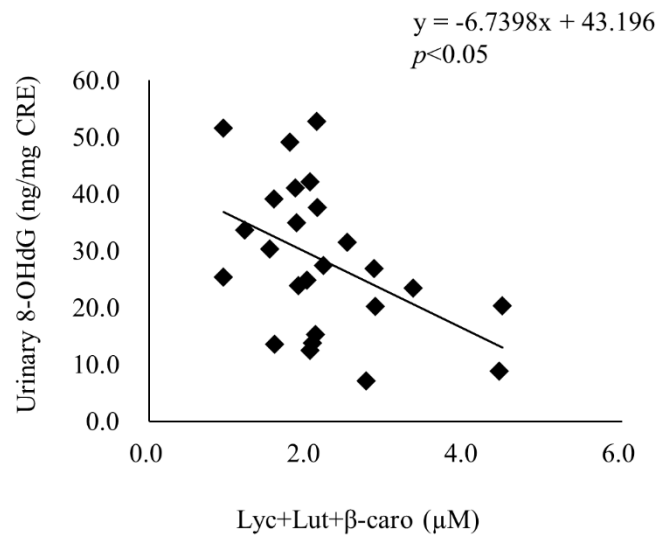


図 19. Lyc+Lut+β-carotene 濃度と尿中 8-OHdG の相関

## 考 察

放射線治療は病巣に対して照射が行われるが、病巣周辺の正常組織にも照射されるため、正常組織もダメージをうける。体外から放射線を照射する外照射では、皮膚を通過することになるため、皮膚への影響が少なからず生じ、多くの患者が放射線皮膚炎を経験する。放射線皮膚炎とQOLが関連することから、症状が悪化したり、遷延したりすることで、日常生活の様々な面に影響をもたらす可能性がある。そのため照射された皮膚状態の悪化予防及び正常組織の早期回復が望まれる。

そこで本研究では、放射線治療を受けた乳がん患者の酸化ストレス状態の評価、及び照射野の皮膚表面温及び皮膚水分量を定量的に評価した。さらに、この2つの指標を用いて、酸化ストレス状態及び照射野の皮膚状態に対するトマトジュースの有用性について検討を行った。

### 【放射線治療を受ける乳がん患者の血中カロテノイド】

TJ群において、血中リコピン濃度の放射線治療中の変動はなかったが、トマトジュース飲用1か月後は個人差があるが約3倍(1.06 – 6.85倍)に上昇した。その後、トマトジュース飲用による血中リコピン濃度の大きな変動はなく、ほぼ一定であった。リコピンのcis体、trans体でも同様に飲用前と比較して有意な上昇が確認された。一方、血中ルテイン、β-カロテン濃度はトマトジュースの飲用に関わらず、有意な上昇は確認されなかった。総カロテノイド濃度、Lyc+Lut+β-carotene濃度もトマトジュースの摂取で有意に上昇したが、これはリコピン濃度の上昇によるものと考えられた。

#### 1. 血中カロテノイドにおける健常者との比較

Itoら<sup>68)</sup>は、健康な日本人の血中カロテノイド濃度について報告しており、女性のリコピン濃度は0.459μMであった。放射線治療中における本研究の対象者のリコピン濃度の値は、先行研究の値よりも低値であった。本研究の対象者は、放射線治療開始前に乳房温存手術又は乳房全摘出術を受けており、生体侵襲が加わっている。生体防御機能が活性化されることで、炎症性サイトカインが過剰に分泌され、酸化ストレスがもたらされた可能性がある。放射線治療開始時からすでにリコピン濃度が低い状態であったと推測される。

## 2. 酸化ストレスとリコピン濃度減少の関連

動物実験において、X線の全身照射後に骨髄のアスコルビン酸やビタミンE濃度が減少し、これはX線照射によって形成されたROSによりアスコルビン酸やビタミンEが消費された可能性があると報告されている<sup>69)</sup>。健康な人に比べ3w及びEndのリコピン濃度が低かったことは、一重項酸素消去能が強いリコピンが照射線量の増加に伴い、ROSによって消費された可能性が考えられる。リコピンは、酸化ストレスレベルの低下や遺伝子機能や免疫応答の調整、慢性疾患のリスク低下をもたらすといわれており、健康に対して有益な影響をもたらすといわれている<sup>70)</sup>。そのため、生体内のリコピン濃度が低い場合、これらの生体の機能が低下することが推測される。カロテノイドは生体内で合成することができないため、免疫応答の調整などを考慮すると、食事から補充することが望ましいと考える。本研究の対象者では、放射線治療期間のリコピン濃度が低値を示したことから、放射線治療終了後速やかにカロテノイドを補充することの有用性が示唆された。

### 【皮膚状態の指標の検討及び皮膚状態の評価】

本研究において、照射側と非照射側の乳房の皮膚表面温の差は、治療3週目に上昇し、その後6Mにかけて緩やかに上昇した。また、乳房の皮膚表面温の差は終了時及び1Mで約1°Cであった。私達が以前に報告した研究においても、治療終了時及び1か月後の乳房の温度差は $1.1 \pm 0.7^{\circ}\text{C}$ であった<sup>71)</sup>。本研究では、6Mにおいても非照射側との温度差があり、6Mで最も高かった。トマトジュースの飲用の有無に関わらず、熱感は長期間継続することが示された。また、放射線治療期間中の照射野の皮膚水分量は放射線量の増加に伴って有意に減少することが示された。水分量の差はトマトジュース飲用の有無に関わらず大きいままであった。トマトジュースの関与については、トマトジュース非飲用者(Without TJ group)の人数が少ないために比較はできなかったが、トマトジュース非飲用者では、3Mや6Mでの照射側と非照射側の水分量の差が大きく、トマトジュースが水分量の回復に寄与していた可能性が考えられた。

## 1. 熱感と皮膚血流量、汗腺、PTVの関連

照射野の皮膚では放射線治療によって皮膚血流量が増加することが報告されている<sup>72)</sup>。これは、照射野の皮膚に温熱負荷がかかっていることを示していると考えられる。



Pigottら<sup>73)</sup>は、汗腺機能の尺度として皮膚コンダクタンスを用い、放射線治療によって皮膚コンダクタンスが低下することを報告している。汗腺の1つである、エクリン汗腺は温熱刺激により発汗をきたすことで、体温調節を行っている。しかし、放射線治療によって汗腺機能がダメージを受けることにより、照射野の皮膚は発汗できない状態になり、照射部位での熱感持続に影響を与えていると考えられた。本研究では、PTVとEndの温度差に中程度の相関があった。放射線皮膚炎のリスク因子にPTVや乳房のサイズが挙げられる<sup>54, 74)</sup>ことから、放射線治療によって生じる皮膚温の上昇は照射容積と関連することが示唆された。皮膚温の上昇は表皮だけでなく、乳腺組織、脂肪組織さらには筋組織なども含めた照射容積全体の炎症の存在、程度および発汗に伴う不感蒸泄の影響を総合的に反映していると考えられた。

## 2. 水分量と皮膚バリア機能の関連

照射された皮膚では、表皮細胞が損傷を受ける。表皮は約200 $\mu\text{m}$ の厚さであり、皮膚表面から角質層、顆粒層、有棘層、基底細胞層の4層からなる。表皮の最下層にある基底細胞層は、真皮に接する1層の基底細胞からなり、真皮内の血管より表皮の代謝に必要な物質を得ている<sup>75)</sup>。また、表皮の中でも基底細胞は細胞分裂が盛んであるため、基底細胞は放射線のダメージを強く受ける。皮脂は汗などの水分と混合し、乳化することで皮脂膜を形成する。皮脂膜には、感染防御や保湿作用があり、角質層の水分維持に働く<sup>76)</sup>。皮脂腺は主に毛包に開口していることが多く、この毛包は表皮から真皮や皮下組織まで入り込んだ構造をしている<sup>77)</sup>。汗腺は、汗腺の終末部が真皮や皮下組織に存在し、終末部で汗を産生している。毛包に関して、X線による3-6Gyの単回照射が約3週間後に一過性の脱毛をもたらす可能性があり、また、皮脂腺も毛包と同程度の感受性である。一方、汗腺は毛包や皮脂腺よりは抵抗性がある<sup>78)</sup>。表皮から皮下組織までに存在する毛包や皮脂腺、汗腺が放射線によるダメージを受けることで、一時的に皮脂膜の形成が抑制され、角層の水分保持機能の低下を引き起こし、水分量の低下に繋がっていると考えられた。

## 3. 皮膚表面温と水分量の有用性

CTCAEによる皮膚炎の評価では、TJ群の放射線皮膚炎の程度は終了時にピークを迎えることが示され、約半数の人がGrade 1であった。このGrade 1はわずかな紅斑

や乾性落屑と定義されている。先行研究において CTCAE の評価と皮膚血流量が相関することが報告されている<sup>72)</sup>ことから、CTCAE は熱感や治療後半から生じる紅斑を反映する指標であると考えられた。しかし、治療終了 1 か月後の評価では、CTCAE によって全対象者が Grade 0 であり、皮膚の定量評価では、熱感及び皮膚乾燥は治療後 1 か月以降も顕著であった。そのため、視覚的判断の基準である CTCAE を用いるだけでなく、熱感や皮膚乾燥にも着目し、照射野の皮膚状態を定量的に評価することが重要であるといえる。

#### 【酸化ストレス状態の評価】

生体内の酸化ストレス状態については、尿中 8-OHdG と d-ROMs の 2 つのマーカーの変化を観察した。先行研究<sup>40)</sup>で示されている健康な日本人女性の尿中 8-OHdG (15.58±5.49 ng/mg CRE) と TJ 群の各時期の測定値と比較した(1 標本の t 検定)。5 時点全ての尿中 8-OHdG が、健康な日本人女性よりも有意に高い状態であった。d-ROMs に関しては、野島ら<sup>67)</sup>が健常者 312 人を対象に酸化ストレスレベルを評価しており、生化学自動分析装置を用いて d-ROMs の測定を行っている。その結果、健康な女性の参考値の酸化ストレスレベルは 293.9±50.3 CARR U であった。この先行研究で報告されている値を健常者の値とし、各測定ポイントの d-ROMs と比較した(1 標本の t 検定を実施)。その結果、5 時点全ての d-ROMs の値が健常者よりも有意に高かった。本研究の対象者の尿中 8-OHdG 値及び d-ROMs 値の両方とも健康な人よりも高かったことから、放射線治療開始時から酸化ストレスレベルは高い状態が続くことが示された。また、Baseline の値が健康な人の値よりも有意に高かったのは、乳房温存手術及び乳房全摘出術や腋窩郭清、化学療法による侵襲の身体的影響が考えられた。また、放射線治療開始になることへの不安などによる心理的影響も考えられた。放射線治療前後で酸化ストレス状態の変化がなかったことに関して、放射線治療中は DNA の損傷によってがん治療の効果がもたらされ、生体内はストレスが負荷されることになる。その一方で、約 5 週間にわたる放射線治療の間に手術など侵襲的な影響からの回復、放射線治療終了に伴う心理的ストレスが軽減され、ストレス状態が相殺された可能性がある。

## 【トマトジュース飲用による放射線皮膚炎及び酸化ストレス状態軽減の可能性】

トマトジュース飲用後の 1M のリコピン濃度は、先行研究の健康な人よりも有意に高く、トマトジュースの継続的飲用が、血中リコピン濃度を高めるのに有用であった。このことは、先行研究と同様の結果であった<sup>79)</sup>。

### 1. リコピンと皮膚との関連

Scarmo<sup>80)</sup>らは血中のリコピン濃度と皮膚中のリコピン濃度が相関することを報告している。Lyc+Lut+ $\beta$ -caro 濃度の増加量( $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro)と皮膚水分量の差の変化量( $\Delta$ -dMoist)で中程度の相関があった。本研究の対象者においても、血中リコピン濃度が高まった結果、皮膚中にリコピンが蓄積された可能性がある。田中ら<sup>81)</sup>は健常者を対象に $\beta$ -カロテン及び $\alpha$ -カロテンを含む野菜・果実のミックスジュースの継続摂取が肌(皮膚)状態に与える影響について調査し、その結果、肌の柔軟性や肌のキメの感覚が改善したことを報告している。ルテインに関する先行研究では、12 週間にわたってルテイン 5mg+ゼアキササンチン 0.3mg を 1 日に 2 回経口から摂取した際、水分量が増加したと報告している<sup>82)</sup>。リコピンは皮膚の活性分子種を消去する作用を有しており、 $\beta$ -カロテンやルテインは皮膚保湿の改善をもたらす可能性があることから、皮膚状態の改善が期待される。

### 2. 抗酸化飲料と緑黄色野菜の影響

本研究では、習慣的に抗酸化飲料を飲用している人は、飲用していない人に比べて 6M の皮膚表面温の差(dTemp)の値が低かった。非ドリンク群のうち 3 人は皮膚表面温の差が特に大きく、いずれも 6-7 月に測定を行っていた。非照射側の皮膚からの発汗により、非照射の皮膚表面温が低くなり、結果として照射側との皮膚表面温の差が増幅された可能性がある。また、6M の緑黄色野菜摂取量の得点と  $\Delta$ -Lyc+Lut+ $\beta$ -caro 濃度が相関していた。野菜にはビタミンやミネラルが含まれており、これらに加え緑黄色野菜の色素成分のカロテノイドも含まれている<sup>83)</sup>。よって、6M の血中カロテノイド濃度に、抗酸化飲料や緑黄色野菜の摂取も関連していることは否めない。血中カロテノイド濃度及び皮膚状態などに対して、複数の要因が関連し、皮膚状態に好影響をもたらしたと考えられる。

### 3. 酸化ストレスレベル及び皮膚状態に対するトマトジュース飲用の有用性

尿中 8-OHdG 及び d-ROMs とともに治療後の酸化ストレスレベルは、End から 3M にかけて増加し、6M にはわずかに減少する変化が示された。d-ROMs では、End に比べて 3M が有意に高かった。放射線治療によってがん細胞の DNA 損傷が引き起こされるが、皮膚のみならず、より深部の乳腺組織や脂肪組織、筋組織などもダメージを受けるため、d-ROMs にこれら全体のダメージが反映されたと推測される。トマトジュースを継続的に飲用している場合には、酸化ストレスレベルは 3M でピークとなると考えられた。1M の Lyc+Lut+ $\beta$ -caro 濃度が高いほど、1M の尿中 8OHdG 値が低いことが示されたが、トマトジュース飲用前後の尿中 8-OHdG では有意な変化がなかった。尿中 8-OHdG レベルはライフスタイルと関連することが報告されていることから<sup>7)</sup>、治療後の酸化ストレス状態に日常生活のストレスの影響が反映されている可能性がある。

Nakamura ら<sup>56)</sup>の基礎研究では、トマトジュースの摂取前、摂取後、ウォッシュアウト期間後の 3 時点の血清に異なる線量の X 線照射を行い、DNA 損傷及び酸化ストレス状態の評価を行った。その結果、トマトジュース摂取前のリコピン+ $\beta$ -カロテン濃度の低い人において、トマトジュース摂取後の血清 8-OHdG 及び radiation-induced dicentrics のレベルがトマトジュース摂取前に比較し、有意に減少したことを述べている。この他、UV 照射において、皮膚に蓄積したリコピンが  $\beta$ -カロテン以上に組織の酸化障害を軽減すること<sup>84)</sup>、また、リコピンが免疫機能を増強すること<sup>85, 86)</sup>、腹部放射線障害を防護すること<sup>64)</sup>が報告されている。これらのことから、トマトジュースの飲用によって免疫能が保持され、さらに皮膚のリコピン濃度が高まることで、被照射組織の炎症及びダメージを受けた皮膚状態の回復促進がもたらされる可能性がある。トマトジュースを長期的に飲用することは、放射線治療によってもたらされる生体内のストレスの軽減及び皮膚など被照射組織の改善の一助になり得ると考えられる。しかし、本研究では対照群となるべき非飲用者が 2 人に留まり、TJ 群との比較が困難であった。今後は非飲用者の人数をある程度確保した上で、より詳細な分析をしていくことが求められる。

我々は、放射線治療を行った乳房の皮膚表面温及び皮膚水分量の測定を行い、経時的変化を評価した。その結果、皮膚表面温は照射容積の炎症を反映し、皮膚水分量は皮脂腺や汗腺を含む表皮層のダメージを反映していると考えられた。CTCAE

による視覚的判断に加え、皮膚表面温及び皮膚水分量も観察していくことは、ダメージの評価を総合的に行う上で必要である。トマトジュース飲用の有無に関わらず、酸化ストレスレベルは治療終了3か月後に最も高くなり、皮膚状態は治療6か月後も皮膚表面温の温度差が認められた。即ち、被照射組織の炎症やこれに伴う身体的影響が急性期を過ぎても十分には回復せず、予想していた以上に遷延することが示唆された。しかし、トマトジュースの継続的な飲用は、リコピンなどの血中カロテノイド濃度を高め、放射線治療によってもたらされる生体内の酸化ストレスの軽減及び照射野内皮膚など被照射組織の有害事象を軽減する重要な手法となる可能性があると考えられた。

## まとめ

本研究では、まず健康な男子学生を対象に運動負荷を実施し、運動負荷に伴う血清、唾液、尿中の酸化ストレスマーカー8-OHdG の変化を観察した。その結果、生体内の酸化ストレス状態を鋭敏に反映する検体として新鮮尿の利用が推奨された。

次いで、東日本大震災のため仮設住宅に居住する被災者を対象に、尿中 8-OHdG を用いて日常的にストレス状態に晒されている集団の酸化ストレス状態の経時的変化を評価した。この結果、被災者の尿中 8-OHdG が経年的に上昇し、仮設住宅での生活期間の長さが心身のストレスレベルに影響していることが推察された。

さらに、放射線治療を受けた乳がん患者を対象に、酸化ストレス状態に対する外因性抗酸化物質含有食品(トマトジュース)投与の有用性を検討した。この結果、トマトジュースの飲用にかかわらず、放射線治療を受けた乳がん患者の酸化ストレスレベルは放射線治療終了後 3 か月前後に高くなり、被照射組織の炎症も長期に及ぶことが示唆された。しかし、抗酸化物質であるカロテノイドを含有するトマトジュースの継続的な飲用は、乳がん患者の血中カロテノイド濃度を上昇させることにより、酸化ストレスレベルの軽減、さらには照射野内の皮膚状態改善など心身への好影響を与える可能性が示唆された。

## 謝 辞

本研究にご協力を頂きました本学学生ボランティア、福島県 A 町住民の方々、研究実施に対しご理解とご協力を頂きました、むつ総合病院外科・放射線科の患者様およびスタッフ、さらには同中央検査科スタッフの皆様に深謝申し上げます。また、本研究を遂行するにあたり、放射線に関する基礎知識を一から教えて下さり、データ収集及び論文作成にあたり、終始数々のご指導ご鞭撻を賜りました、むつ総合病院の真里谷靖先生、本学大学院保健学研究科の井瀧千恵子先生、論文投稿にあたりご指導賜りました、放射線被ばく医療総合研究所の山田正俊先生、床次眞司先生に心より感謝申し上げます。

## 引用文献

- 1) 馬島秀行: 酸化ストレス及び放射線障害における細胞内ミトコンドリアの役割. 鹿児島大学歯学部紀要, 22: 15-23, 2002.
- 2) 江口裕伸, 藤原範子, 他: 酸化ストレスと健康. 生物試料分析, 32(4): 247-256, 2009.
- 3) 片山善章: 酸化ストレス. 生物試料分析, 32(4): 245-246, 2009.
- 4) 吉川敏一: フリーラジカルの科学. pp.3-42, 講談社, 東京, 1997.
- 5) Yuji N, Masaichi-Chang-il L, et al: Oxidative Stress Markers. *Anti-Aging Medicine*, 7 (5): 36-44, 2010.
- 6) 酒井一雄, 越智大倫, 他: 酸化ストレスマーカー8-OHdG. 生物試料分析, 32(4): 297-300, 2009.
- 7) Kasai H, Iwamoto-Tanaka N, et al: Life style and urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage: effects of exercise, working conditions, meat intake, body mass index, and smoking. *Jpn J Cancer Res*, 92(1): 9-15, 2001.
- 8) Irie M, Miyata M, et al: Depression and possible cancer risk due to oxidative DNA damage. *J Psychiatr Res*, 39(6): 553-561, 2005.
- 9) Cicero AFG, Colletti A: Effects of Carotenoids on Health: Are All the Same? Results from Clinical Trials. *Curr Pharm Des*, 23(17): 2422-2427, 2017.
- 10) Skiöld S, Naslund I, et al: Radiation-induced stress response in peripheral blood of breast cancer patients differs between patients with severe acute skin reactions and patients with no side effects to radiotherapy. *Mutat Res*, 756(1-2): 152-157, 2013.
- 11) Valavanidis A, Vlachogianni T, et al: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 27(2): 120-139, 2009.
- 12) Hartmann A, Nieß AM, et al: Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutat Res*, 346: 195-202, 1995.
- 13) 改訂版『身体活動のメッツ(METs)表』  
[http://www0.nih.go.jp/eiken/programs/program\\_kenko.html](http://www0.nih.go.jp/eiken/programs/program_kenko.html) (2016-11-21)



- 14) Harms-Ringdahl M, Jenssen D, et al: Tomato juice intake suppressed serum concentration of 8-oxodG after extensive physical activity. *Nutr J*, 11: 29, 2012.
- 15) Haghdoost S, Czene S, et al: Extracellular 8-oxo-dG as a sensitive parameter for oxidative stress in vivo and in vitro. *Free Radic Biol Med*, 39(2): 153-162, 2005.
- 16) Haghdoost S, Sjölander L, et al: The nucleotide pool is a significant target for oxidative stress. *Free Radic Biol Med*, 41: 620-626, 2006.
- 17) Haghdoost S, Svoboda P, et al: Can 8-oxo-dG be used as a predictor for individual radiosensitivity?. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 50(2): 405-410, 2001.
- 18) 杉谷博士: 唾液分泌のメカニズム. *日本口腔外科学会雑誌*, 57(4): 182-186, 2011.
- 19) 三橋百合子, 植田伸夫: 唾液の成分(血清との比較). *帝京短期大学紀要*, 17: 115-120, 2012.
- 20) 中島早苗, 韓 一栄, 他: 一過性意の運動負荷による尿中 8-OHdG 排泄量の変動. *東京慈恵会医科大学雑誌*, 120(4): 153-159, 2005.
- 21) 丹羽健市, 中井誠一, 他: 運動時の環境温度と飲水量・発汗量及び体温に関する実態調査. *体力科学*, 45: 151-158, 1996.
- 22) 田中喜秀, 脇田慎一: ストレスと疲労のバイオマーカー. *日本薬理学雑誌*, 137(4): 185-188, 2011.
- 23) 小河原はつ江, 櫻井仁美, 他: 運動負荷による尿中 8-ヒドロキシ 2'-デオキシグアノシン(8-OHdG)値の変動. *Kitakanto Med J*, 52: 351-356, 2002.
- 24) 神林勲, 石村宣人, 他: 短時間の高強度間欠的運動は尿中 8-OHdG 含有量を増加させる. *日本運動生理学雑誌*, 11(2): 61-67, 2004.
- 25) Okamura K, Doi T, et al: Effect of Repeated Exercise on Urinary 8-Hydroxy-deoxyguanosine Excretion in Humans. *Free Radic Res*, 26(6): 507-514, 1997.
- 26) Inoue T, Mu Z, et al: Effect of physical exercise on the content of 8-hydroxydeoxyguanosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes. *Jpn J Cancer Res*, 84(7): 720-725, 1993.

- 27) Nakano M, Kanishi Y, et al: Oxidative DNA damage (8-hydroxydeoxyguanosine) and body iron status: a study on 2507 healthy people. *Free Radic Biol Med*, 35(7): 826-832, 2003.
- 28) 柴垣有吾: 腎臓の機能. 医療情報科学研究所. 病気がみえる vol.8 腎・泌尿器. 第2版. pp.50-71. メディックメディア. 東京. 2014.
- 29) Tsuruya K, Furuichi M, et al: Accumulation of 8-oxoguanine in the cellular DNA and the alteration of the OGG1 expression during ischemia-reperfusion injury in the rat kidney. *DNA Repair (Amst)*, 2(2): 211-229, 2003.
- 30) 谷口耕輔, 杉田正明: 異なる強度の持久的運動における生理的応答と酸化ストレス及び抗酸化力との関係. *トレーニング科学*, 26(3): 155-168, 2015.
- 31) <http://www.pref.fukushima.lg.jp/site/portal/> (2017-6-1)
- 32) [http://www.reconstruction.go.jp/topics/main-cat2/sub-cat2-1/20170728\\_hinansha.pdf](http://www.reconstruction.go.jp/topics/main-cat2/sub-cat2-1/20170728_hinansha.pdf) (2017-8-8)
- 33) [http://www.fdma.go.jp/concern/publication/higashinihondaishinsai\\_kirokushu/](http://www.fdma.go.jp/concern/publication/higashinihondaishinsai_kirokushu/) (2017-6-20)
- 34) 本谷亮: 東日本大震災被災者・避難者の健康増進. *行動医学研究*, 19(2): 68-74, 2013.
- 35) 北島麻衣子, 大津美香, 他: 福島第一原子力発電所事故4年後における避難生活を送る高齢者の健康および放射線の不安に関する意識調査. *日本放射線看護学会誌*, 5(1): 47-55, 2017.
- 36) 村上晴香, 吉村英一, 他: 仮設住宅に居住する東日本大震災被災者における身体活動量の1年間の変化. *日本公衆衛生学会誌*, 61(2): 86-92, 2014.
- 37) Ohira T, Hosoya M, et al: Effect of Evacuation on Body Weight After the Great East Japan Earthquake. *Am J Prev Med*, 50(5): 553-560, 2016.
- 38) Saito K, Aoki H, et al: Association of urinary 8-OHdG with lifestyle and body composition in elderly natural disaster victims living in emergency temporary housing. *Environ Health Prev Med*, 18(1): 72-77, 2013.
- 39) [http://www.technomedica.co.jp/t01/products/labo\\_tests/5/icr-001.html](http://www.technomedica.co.jp/t01/products/labo_tests/5/icr-001.html) (2017-8-25)

- 40) Kimura S, Yamauchi H, et al: Evaluation of urinary 8-hydroxydeoxyguanine in healthy Japanese people. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 98(5): 496-502, 2006.
- 41) Harada N, Shigemura J, et al: Mental health and psychological impacts from the 2011 Great East Japan Earthquake Disaster: a systematic literature review. *Disaster Mil Med*, 1: 17, 2015.
- 42) Maeda M and Oe M: Mental Health Consequences and Social Issues After the Fukushima Disaster. *Asia Pac J Public Health*, 29(2S): 36S-46S, 2017.
- 43) 黒澤美枝子: 第 6 章 自律機能と本能行動. 小澤澗司, 福田康一郎. 標準生理学. 第 7 版. pp.400-422. 医学書院. 東京. 2009.
- 44) Numakawa T, Kumamaru E, et al: Glucocorticoid receptor interaction with TrkB promotes BDNF-triggered PLC-gamma signaling for glutamate release via a glutamate transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(2): 647-652, 2009.
- 45) Arima Y, Ohki T, et al: Brain micro-inflammation at specific vessels dysregulates organ-homeostasis via the activation of a new neural circuit. *Elife*, 6: e25517, 2017.
- 46) 遠又靖丈, 佐藤紀子, 他: 東日本大震災の被災地における運動教室の効果. *日本公衆衛生学会誌*, 62(2): 66-72, 2015.
- 47) 井瀧千恵子, 福士泰世, 他: 福島第一原子力発電所事故により避難生活を送る高齢者の運動機能低下の実態と身体活動向上への予防的介入の試み. *保健科学研究*, 7: 21-27, 2017.
- 48) Grassi L, Spiegel D, et al. Advancing psychosocial care in cancer patients. *F1000Res*, 6:2083, 2017.
- 49) 小沢俊彦: 放射線障害予防と酸化ストレス. 吉川敏一. 酸化ストレスの医学. 改訂第 2 版. pp417-426. 診断と治療社. 東京. 2014.
- 50) Lester Mandelker: 第 1 章 酸化ストレスおよびミトコンドリア機能障害の概要. 金山喜一, 藏内勇夫. サンダース ベテリナリー クリニカルシリーズ vol4 No1. pp.2-14. インターズー. 東京. 2008.
- 51) 金子崇, 後藤準, 他: 放射線照射後のラットにおける酸化反応物測定値と皮膚障害の関係. *山形大学紀要.医学*, 29(1): 19-28, 2011.

- 52) McQuestion M: Evidence-based skin care management in radiation therapy: clinical update. *Semin Oncol Nurs*, 27(2): e1-17, 2011.
- 53) Schnur JB, Love B, et al: A systematic review of patient-rated measures of radiodermatitis in breast cancer radiotherapy. *Am J Clin Oncol*, 34(5): 529-536, 2011.
- 54) Kole AJ, Kole L, et al: Acute radiation dermatitis in breast cancer patients: challenges and solutions. *Breast Cancer (Dove Med Press)*, 9: 313-323, 2017.
- 55) Schnur JB, Ouellette SC, et al: A qualitative analysis of acute skin toxicity among breast cancer radiotherapy patients. *Psychooncology*, 20(3): 260-268, 2011.
- 56) Nakamura A, Itaki C, et al: Possible benefits of tomato juice consumption: a pilot study on irradiated human lymphocytes from healthy donors. *Nutr J*, 16(1): 27, 2017.
- 57) Gajowik A and Dobrzyńska MM: Lycopene - antioxidant with radioprotective and anticancer properties. A review. *Rocz Panstw Zakl Hig*, 65(4): 263-271, 2014.
- 58) Story EN, Kopec RE, et al: An update on the health effects of tomato lycopene. *Annu Rev Food Sci Technol*, 1: 189-210, 2010.
- 59) Wang XD: Lycopene metabolism and its biological significance. *Am J Clin Nutr*, 96(5): 1214S-1222S, 2012.
- 60) 長尾昭彦: カロテノイドの吸収と代謝. *Functional Food*, 4(2): 189-193, 2010.
- 61) Nishino H, Tokuda H, et al: Cancer prevention by natural carotenoids. *Biofactors*, 13(1-4): 89-94, 2000.
- 62) Di Mascio P, Kaiser S, et al: Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Arch Biochem Biophys*, 274: 532-538, 1989.
- 63) FORSSBERG A, WALINDER G, et al: Investigation of the curative effect of lycopene in irradiated mice. *Acta radiol*, 53: 392-400, 1960.
- 64) 伊藤要子, 倉部輝久, 他: マウス腹部放射線障害に対するリコペン防護作用. *日本臨床生理学会誌*, 34(1): 5-16, 2004.
- 65) Heinrich U, Gärtner C, et al: Supplementation with beta-carotene or a similar amount of mixed carotenoids protects humans from UV-induced erythema. *J Nutr*, 133(1): 98-101, 2003.

- 66) 福士泰世, 中村歩美, 他: 運動負荷に伴う酸化ストレスマーカー8-oxo-dG 及び炎症関連マーカー血清 MMPs の経時的変動～血清・唾液・尿検体の有用性の検討～. 保健科学研究, 7: 13-20, 2017.
- 67) 野島順三, 宮川真由美, 他: 自動分析装置 BM-1650 による酸化ストレス度の測定. 医学検査, 59(3): 199-207, 2010.
- 68) Ito Y, Ochiai J, et al: Serum concentrations of carotenoids, retinol, and alpha-tocopherol in healthy persons determined by high-performance liquid chromatography. Clin Chim Acta, 194(2-3): 131-144, 1990.
- 69) Umegaki K, Aoki S, et al: Whole body X-ray irradiation to mice decreases ascorbic acid concentration in bone marrow: comparison between ascorbic acid and vitamin E. Free Radic Biol Med, 19(4): 493-497, 1995.
- 70) Palozza P, Catalano A, et al: Lycopene as a guardian of redox signalling. Acta Biochim Pol, 59(1): 21-25, 2012.
- 71) Fukushi Y, Kitajima M, et al: Changes in Skin Surface Temperature and Erythema Intensity during and after Radiotherapy for Breast Cancer Patients. Radiat Emerg Med, 3(2): 47-51, 2014.
- 72) Huang CJ, Hou MF, et al: RTOG, CTCAE and WHO criteria for acute radiation dermatitis correlate with cutaneous blood flow measurements. Breast, 24(3): 230-236, 2015.
- 73) Pigott KH, Dische S, et al: Sweat gland function as a measure of radiation change. Radiother Oncol, 54(1): 79-85, 2000.
- 74) Chen MF, Chen WC, et al: Predictive factors of radiation-induced skin toxicity in breast cancer patients. BMC Cancer, 10: 508, 2010.
- 75) 百武昌夫, 中島英夫, 他: 膜透過の見地から見た角層の透過性. 油化学, 34(10), 877-884, 1985.
- 76) 清水宏: あたらしい皮膚科学. 第2版. pp1-26. 中山書店. 東京. 2011.
- 77) 武田多一: 3章皮膚と膜 2節皮膚. 林正健二. ナーシンググラフィカ① 人体の構造と機能—解剖生理学. 第1版. pp.61-68. メディカ出版, 大阪, 2005.

- 78) Koenig TR, Wolff D, et al: Skin Injuries from Fluoroscopically Guided Procedures: Part 1, Characteristics of Radiation Injury. *AJR Am J Roentgenol*, 177(1): 3-11, 2011.
- 79) 坂本秀樹, 森啓信, 他: トマトジュースの連続飲用による血清中のカロテノイドの濃度の上昇. *日本栄養・食糧学会誌*, 47(2): 93-99, 1994.
- 80) Scarmo S, Cartmel B, et al: Significant correlations of dermal total carotenoids and dermal lycopene with their respective plasma levels in healthy adults. *Arch Biochem Biophys*, 504(1): 34-39, 2010.
- 81) 田中沙紀子, 大亀友華, 他: 野菜・果実ミックスジュースの継続摂取が肌(皮膚)状態に与える影響の把握. *応用薬理*, 90: 13-24, 2016.
- 82) Palombo P, Fabrizi G, et al: Beneficial long-term effects of combined oral/topical antioxidant treatment with the carotenoids lutein and zeaxanthin on human skin: a double-blind, placebo-controlled study. *Skin Pharmacol Physiol*, 20(4): 199-210, 2007.
- 83) 稲熊隆博: カロテノイド含有野菜のヒト健康への寄与およびその利用に関する研究. *日本食品科学工学会誌*, 62(6): 263-273, 2015.
- 84) Ribaya-Mercado JD, Garmyn M, et al: Skin lycopene is destroyed preferentially over beta-carotene during ultraviolet irradiation in humans. *J Nutr*, 125(7): 1854-1859, 1995.
- 85) Kobayashi T, Iijima K, et al: Effects of lycopene, a carotenoid, on intrathymic T cell differentiation and peripheral CD4/CD8 ratio in a high mammary tumor strain of SHN retired mice. *Anticancer Drugs*, 7(2): 195-198, 1996.
- 86) Bendich A and Shapiro SS: Effect of beta-carotene and canthaxanthin on the immune responses of the rat. *J Nutr*, 116(11): 2254-2262. 1986.

## Abstract

Estimating stress using an oxidative stress marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and examination of the effects of tomato juice consumption on oxidative stress conditions

Yasuyo Fukushi

Hirosaki University Graduate School of Health Sciences

Division of Health Sciences

Department of Disability and Health

First, we analyzed serial changes of an oxidative stress marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) using serum, saliva, and urine obtained from seven healthy male volunteers that were subjected to exercise load. The value of urinary 8-OHdG significantly increased 1 h after exercise, and then significantly decreased 24 h after exercise to the same level before exercise. It was suggested that acute exercise load could be detected from the change in urinary 8-OHdG as oxidative stress *in vivo*.

Secondly, we estimated serial changes in stress condition for two groups, one with disaster and the other with malignant disease etiologies, using oxidative stress markers, including urinary 8-OHdG. In addition, we examined the effects of tomato juice consumption against the oxidative stress condition for the latter group. For evacuees living in temporary housing after the accident at the Fukushima Daiichi Nuclear Power Plant in 2011, we serially estimated the stress levels for three years using urinary 8-OHdG. It was found that stress levels increased with the length of time spent living in temporary housing, inducing mental and physical stress in the evacuees. Further, we serially estimated the changes in oxidative stress level and skin condition in patients with histories of breast cancer who underwent radiotherapy after surgery. Stress levels

increased three months after the end of radiotherapy and plateaued, regardless of tomato juice consumption. Radiation-induced inflammation also persisted longer than expected; however, the condition of the patients' skin improved following the start of tomato juice consumption. Serum carotenoids significantly increased as a result of continual ingestion of tomato juice. Carotenoids are anti-oxidative stress materials that might reduce oxidative stress and improve the condition of irradiated tissues such as skin.

Key word: oxidative stress, urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, evacuess, radiation,  
tomato juice