

学位論文（博士）

Amino Acids may have Protective
Effects on Salivary Glands of
5-FU-administered Mice

(5-FU 投与マウスの唾液腺に対する
アミノ酸の保護効果)

氏名 藤原 里依子

所属 山口大学大学院医学系研究科

医学専攻 歯科口腔外科学講座

令和3年12月

目次

1. 要旨	3
2. 研究の背景、目的	3～4
3. 方法	4～6
4. 結果	6～7
5. 考察	7～8
6. 結論	8
7. 参考文献	9～13
8. 図	14～20

1. 要旨

抗がん剤の副作用である口腔粘膜炎の改善にはエレンタール®は有効であることが報告されている。5-フルオロウラシル (5-FU) の副作用には口腔粘膜炎がある。そこでエレンタール®の中で口腔粘膜炎の改善に最も有用な成分の特定を試みた。マウス (対照群を除く) に 5-FU を 4 日間腹腔内注射し、生理食塩水 (対照群、5-FU 群)、デキストリン (デキストリン群)、アミノ酸 (17AA 群)、エレンタール® (エレンタール®群) のいずれかを 7 日間投与した。

2. 研究の背景

口腔粘膜炎は、化学療法や放射線療法の副作用の一つであり、癌患者の入院期間を延長させ、治療費を高める要因となっている(1, 2)。癌患者、特に免疫が抑制されている状態の患者では、栄養摂取量や唾液腺の機能が損なわれ、それに伴い体重減少や口腔衛生状態の不良、急激な口腔内の疼痛、感染症、出血、菌血症、敗血症、唾液腺の萎縮、口腔乾燥など様々な合併症が発生する (1-4)。しかし、化学療法や放射線療法によって引き起こされる口腔粘膜炎の詳細なメカニズムについては、いまだ不明である。5-FU を用いた化学療法を受けている癌患者の約 80%が口腔粘膜炎を発症し、そのうち 20%が重度の口腔粘膜炎に罹患している(5)。抗悪性腫瘍剤は、口腔、中咽頭、腸、皮膚などの基底上皮や粘膜細胞、さらには組織幹細胞に傷害を与える可能性がある(6-9)。

唾液腺の機能と唾液量は、口腔と中咽頭の健康状態の調整に重要な役割を果たしている(3)。唾液に含まれるムチンなどのタンパク質は潤滑作用があり、ラクトフェリン、ディフェンシン、免疫グロブリン A (IgA) などは抗菌作用や保護作用がある (10)。5-FU、タキサン、白金製剤などの化学療法剤は唾液腺組織を傷害し、唾液分泌量や唾液のタンパク質を減少させることが口腔粘膜炎の発生と重症化の原因となっていることはよく知られている(3, 11-13)。しかし、化学療法誘発性粘膜炎の予防または治療のために利用可能な治療法の有効性は限られている (14-17)。そして、これらの治療法は、化学療法の副作用から唾液腺と唾液腺の機能を保護することを目的とはしていない。したがって、抗癌剤の副作用を軽減するための新しい投薬戦略の発見、粘膜炎の新しい治療法の開発が喫緊の課題となっている。

エレンタール®は、アミノ酸、炭水化物、ビタミン、ミネラル、脂肪などの複数の成分で構成された成分栄養剤である (18,19)。エレンタール®は、デキストリン (63.41g/80g) と 17 種類のアミノ酸の混合物 (14.1g/80g、特に L-グルタミン (1932mg/80g) と L-ロイシン (899mg/80g) を多く含む) を含んでいる (表 1)。このエレンタール®は、日本では何十年

も前から癌患者の栄養不良の治療薬として使用されており、世界的にもクローン病の治療薬として使用されている(19-22)。複数の臨床研究で、癌患者の化学療法誘発性粘膜炎に対するエレンタール®の有効性が示されている(23, 24)。動物実験では、グルタミンを含むエレンタール®が化学療法剤や放射線から腸を保護し、化学療法による粘膜炎や皮膚炎の治療に有用となる可能性が示されている(7,9, 25, 26)。我々の先行研究でも、頭頸部癌患者の化学療法による粘膜炎や皮膚炎に対するエレンタール®の治療効果を報告した(27, 28)。しかし、エレンタール®のどの成分が5-FU誘発性粘膜炎の治療に最も有用なのか、また、エレンタール®が口腔粘膜炎患者の5-FU誘発性萎縮性変化から唾液腺を保護することができるのかは不明であった。

本研究では、動物モデルを用いて、5-FU誘発性粘膜炎の治療に最も有用なエレンタール®の成分を明らかにすることを目的とした。さらに、エレンタール®またはエレンタール®の成分が、5-FUによる唾液腺の萎縮や唾液腺機能など、癌化学療法に伴うマウスの副作用を軽減するかどうかを明らかにすることを試みた。

3. 方法

(1) 対象

10週齢のICRマウス(雌)は、日本クレア株式会社から導入した。マウスは山口大学の動物実験ガイドラインに基づき、病原体のない環境で飼育した。実験開始1週間前から環境に適応させた。また餌と水は自由に与えられた。すべての動物実験はガイドラインに準拠し、山口大学の動物使用委員会によって承認された(承認番号55-017)。

(2) 5-FUによる唾液腺の萎縮変化の誘発とエレンタール®または

エレンタール®成分の保護効果の推定

15匹のマウスを0日目に5群(対照群、5-FU群、デキストリン群、17AA群、エレンタール®群、n=3)に分けた(グループ分けした時点を0日目とする)。各群のマウスの平均体重はほぼ同じであった。図1に実験スケジュールを示す。12匹のマウス(対照群を除く)に、5-FU(40mg/kg/日)を4日間(0日目から3日目まで)腹腔内注射し、唾液腺の萎縮変化を誘導した。対象群および5-FU群のマウスには生理食塩水(0.8ml/日)を、エレンタール®群にはエレンタール®(0.43g/0.8ml/日)を8日間(0日目から7日目まで)経口投与した。表Iにエレンタール®0.43gの成分を示す。デキストリン群にはエレンタール®の成分であるデキストリン(0.349/0.8ml/日)を、17AA群にはエレンタール®の成分である17種

類のアミノ酸の混合物（総量 0.07g/0.8ml/日）を 8 日間（0 日目から 7 日目まで）経口投与した。デキストリンと 17 種類のアミノ酸の量は、エレンタール® 0.43g 中のこれらの成分の含有量と同じであった（表 1）。

体重は、0 日目から 8 日目まで、5-FU、生理食塩水、デキストリン、アミノ酸、エレンタール®を投与する前に測定した。8 日目に実験を終了し、すべてのマウスを頸椎脱臼により安楽死させた。唾液腺（顎下腺および舌下腺）は、安楽死させた直後の 8 日目に採取、測定、重量測定し、組織学的分析のために 4%中性緩衝パラホルムアルデヒドで固定した。唾液腺の体積は、0.4%長さ（L）×幅（W⁰）で算出した。

（3）ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色

唾液腺を 4%中性緩衝液パラホルムアルデヒドで 4°C、24 時間固定した後、パラフィンに包埋した。4um の厚さの組織切片を HE 染色した。組織切片をキシレン、エタノール（100%～70%）の順に浸した後、水道水で洗浄した。その後、ヘマトキシリンに 10 分、エタノールに 30 秒、アンモニア水に 30 秒浸漬し、水道水で十分に洗浄した。その後、エオジンで 1 分間処理し、さらにエタノール（70%～100%）とキシレンで脱水した。HistoClear で切片を洗浄した後、DPX mounting medium を用いてスライドをガラスカバースリップで被覆した。次に、偏光顕微鏡（BX51; Olympus Corporation, Tokyo, Japan）を用いて、200 倍の倍率で、組織切片ごとにランダムに選んだ 10 箇所粘液腺または損傷した顆粒管上皮細胞の数を数えた。結果は、平均%+SD で表した。

（4）コリン作動薬による唾液の分泌促進

Matsui ら(29)の方法に従い、安楽死させる直前に各マウスから全唾液を採取した。唾液採取の前に 5～7 時間絶食させ、午後 3 時から 6 時の間に行った。全身麻酔として混合麻酔薬[メドミジン 0.3mg/kg、ミダゾラム 4.0mg/kg、ブトルファノール 5.0mg/kg]を用い腹腔内に注射した。次に、塩酸ピロカルピン（1.0mg/kg）を生理食塩水に溶かし、麻酔をかけたマウスの皮下に注射し、唾液分泌を刺激した。各唾液サンプルは、15 分後および 30 分後に口腔内から綿球で採取し、唾液を含む綿球の重量から乾燥した綿球の重量を差し引くことで、唾液サンプルの重量を測定した。

（5）統計解析

すべてのデータは、平均値±標準偏差で表した。すべてのデータは Mann-Whitney *U* 検定を用いて 5-FU 群と個別に比較し、*P* 値は Mann-Whitney *U* 検定に基づいて算出した。*P*<0.05 で、統計的に有意な差があると判断した。すべての統計解析は、StatView v.5.0J

software を用いて行った。

4. 結果

(1) 体重変化の割合

異なる治療群と 5-FU 群の間で、動物の形態に顕著な変化をマクロ的に検出することはできなかった (図 2A)。また、実験中の各群間の体重にも有意差はなかった (図 2B)。

(2) 唾液腺の大きさと重さの変化

唾液の分泌量の減少は、癌化学療法を受けている患者の口腔粘膜炎と関連している(30)。本研究では、5-FU 投与後、エレンタール®またはエレンタール®中の成分を投与したマウスの唾液腺のサイズ、体積、重量を評価した。唾液腺の大きさは、すべての群の中で 5-FU 群が最も小さかった。デキストリン群は 2 番目に小さく、対照群は 3 番目に唾液腺が小さかった (図 3A)。唾液腺の大きさと体積は、17AA 群とエレンタール®群で他のすべての群よりも比較的大きかった (図 3A および 3B)。唾液腺の平均体積は、対照群で $123+20.1\text{mm}$ 、5-FU 群で $63.3+17.8\text{mm}$ 、デキストリン群で $87.4+31.0\text{mm}$ 、17AA 群で $167.8+34.7\text{mm}$ 、エレンタール®群で $148.8+30.2\text{mm}$ であった (図 3B)。図 3C は、対照群、デキストリン群、17AA 群、エレンタール®群の唾液腺重量が、5-FU 群の唾液腺重量よりも高かったことを示している。唾液腺の重量は、エレンタール®群が最も重く、次に重かったのは 17AA 群であった (図 3C)。

(3) 唾液腺の組織学的変化

唾液腺の組織学的変化を図 4A に示した。黄色の矢印は、唾液腺の粘液腺領域を示している。5-FU 群の粘液腺の大きさは、他のすべての群よりも大きかった (図 4A)。しかし、対照群、デキストリン群、17AA 群、エレンタール®群では、5-FU 群に比べて粘液腺の数が多かった (図 4B)。興味深いことに、粘液腺の数は、17AA 群とエレンタール®群で最も多かった (図 4B)。図 4C は、5-FU 群がすべての群の中で最も損傷した顆粒管上皮細胞の数が多く、対照群は最も少なかったことを示している。エレンタール®と 17AA 群では、デキストリンと 5-FU 群に比べて損傷顆粒管上皮細胞の数が顕著に少なかった。さらに、5-FU 処理した唾液腺の HE 染色組織では、顆粒管上皮細胞 (黄色矢印) の消失や萎縮の発生が確認できた (図 4C)。

(4) 唾液分泌パターンの変化

5-FU 投与群では唾液分泌量が減少した。一方、17AA 群およびエレンタール[®]群では、ピロカルピン刺激の 15 分後、30 分後に、5-FU 群と比較して唾液分泌量が増加した。しかし、デキストリン群では有意な増加はなかった (図 5)。

5. 考察

本研究では、唾液腺の萎縮と機能障害に起因する 5-FU 誘発粘膜炎に対するエレンタール[®]またはエレンタール[®]成分の有効性を検討した。水分、イオン、タンパク質の混合物である唾液は、3 対の主要な唾液腺によって生成される。唾液腺の機能障害や唾液分泌量の減少は、口腔粘膜の健康状態や口腔衛生に悪影響を及ぼす (3, 12, 13)。唾液には、主にタンパク質に関連する潤滑と保護などの機能がある (11)。ある種の化学療法や放射線療法は、唾液腺の機能障害や臨床的に有意な唾液流量の減少を引き起こす可能性がある (2-4)。唾液腺の機能低下は、粘膜炎の発生および重症度と直接関連しており、これは抗菌因子および粘膜保護剤 (例: ラクトフェリン、ディフェンシン、糖タンパク質、IgA、上皮成長因子、ムチンなど) の不足が原因となる可能性がある (3, 11, 13)。化学療法剤が口腔上皮に直接接触すると、唾液の分泌物を介して粘膜の損傷を引き起こす可能性がある (31)。また、ある研究では、唾液の分泌量が少ないことが、5-FU による口腔粘膜炎の発生率が高い理由の一つであることが示されている (13)。

化学療法または化学放射線療法による口腔粘膜炎は、患者の栄養失調のリスクを高め、癌患者の副作用を増加させる可能性がある。エレンタール[®]は、消化されやすい遊離アミノ酸と、吸収されやすいデキストリンなどの糖質を含み、栄養失調患者の栄養状態の維持・改善に有効である (18-20)。近年、化学療法を受けている患者の栄養不良の治療にエレンタール[®]が使用されている。さらに、我々は先行研究によりエレンタール[®]が化学療法による口腔粘膜炎を改善することを確認した (25-28)。これまでのデータから、エレンタール[®]またはエレンタール[®]の成分は、口腔内環境を改善することで、唾液腺を保護し、唾液分泌量を維持し、口腔粘膜炎を緩和することができるのではないかと推測した。しかし、エレンタール[®]が口腔粘膜炎を緩和する詳細なメカニズムは明らかになっていない。そこで、5-FU 誘発性唾液腺萎縮・機能障害モデルマウスに対するエレンタール[®]の効力を検討し、エレンタール[®]の成分、特にアミノ酸に注目した。

本研究の結果は、エレンタール[®]またはエレンタール[®]の成分が、5-FU による唾液腺への悪影響を軽減することを示唆している。5-FU 投与群では、17AA 群、エレンタール[®]群、デキストリン群に比べて、唾液腺の重量と唾液分泌量が低下していることが確認された (図 3、図 5)。さらに、5-FU 群の唾液腺では、他の群に比べて粘液腺の数が少なく、損傷した顆粒管上皮細胞の数が多かった (図 4)。これらのデータから、5-FU で損傷を受けた唾液腺は、

エレンタール®やアミノ酸、デキストリンを投与することで回復すると考えられる。また、これらの回復効果はエレンタール®群の場合に最も高いことが確認された。また、いずれの場合も、デキストリン群に比べて 17AA 群で回復効果が顕著に高かった。したがって、5-FU による唾液腺の萎縮変化の副作用を改善するためには、アミノ酸がエレンタール®の最も重要な成分であることが推測される。

McCarthy らは、5-FU を投与されている患者のベースラインおよび治療中の唾液流量が少ないと、粘膜炎のリスクが高まると報告している(13)。唾液中の主要な免疫グロブリンは IgA である。唾液の分泌量が減少すると、唾液の浄化作用が低下し、分泌型 IgA の濃度が低下する。IgA は抗菌作用を示し、EGF は唾液中の組織修復に必要である(32, 33)。この研究結果は、細菌の作用や最終生成物が粘膜炎の重症度と関連しているという仮説を支持するものと思われる(34)。また、化学療法中の唾液流量の減少が、粘膜炎の改善に有用である可能性があるという報告もある(35, 36)。しかし、本研究のデータでは、エレンタール®またはエレンタール®成分が唾液分泌量を増加させ、マウスモデルにおいて 5-FU による萎縮性変化から唾液腺を回復させたことから、エレンタール®が口腔粘膜炎を緩和する可能性が示唆された。これらの結果は、エレンタール®またはエレンタール®の成分が組織の修復を促進し、口腔内の細菌叢を調整するという本研究の仮説を支持するものである。化学療法による口腔粘膜炎の予防と治療のためには、口腔内環境に対する化学療法剤の毒性作用を理解するためのさらなる研究が必要である。

エレンタール®またはエレンタール®成分、特にアミノ酸は、5-FU による口腔粘膜炎をはじめとする癌化学療法の副作用を軽減する可能性がある。その結果、本研究ではエレンタール®成分の中でも、アミノ酸が 5-FU による唾液腺の萎縮変化や唾液腺の機能障害に対して最も高い改善効果を示す可能性があるという結論付けた。

6. 結論

エレンタール®の成分の中でアミノ酸が最も効果的にマウスの唾液腺を 5-FU による萎縮変化から保護することができ、がん患者の口腔粘膜炎の治療に役立つ可能性が示唆された。

6. 参考文献

- 1 Sonis ST: Oral mucositis. *Anticancer Drugs*: volume22-Issue7-607-612, 2011.
DOI:10.1097/CAD.0b013e3283462086
- 2 ÖZEL O, AYÇİÇEK A, KENAR F, AKTEPE F, SARGIN R, YILMAZ MD, DEREKÖY FS:
Histopathologic changes in the rabbit submandibular gland after 5-fluorouracil chemotherapy.
Turk J Med Sci 40 (2): 213-220, 2010. DOI:10.3906/sag-0807-10
- 3 Epstein JB, Tsang AHF, Warkentin D and Ship JA: The role of salivary function in
modulating chemotherapy-induced oropharyngeal mucositis: a review of the literature. *Oral
Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 94(1): 39-44,2002. PMID:12193891 DOI:
10.1067/moe.2002.126018
- 4 Epstein JB, Thariat J, Bensadoun RJ, Barasch A, Murphy BA, Kolnick L, Popplewell L, Ellie
Maghami: Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to
survivorship. *CA Cancer J Clin* 62(6): 400-422,2012.
PMID: 22972543 DOI:10.3322/caac.21157
- 5 Symonds RP: Treatment-induced mucositis: an old problem with new remedies. *Br J Cancer*
77(10): 1689-1695,1998. PMID: 9635851 DOI:10.1038/bjc.1998.279
- 6 Skubitz KM, Anderson PM: Oral glutamine to prevent chemotherapy induced stomatitis: a
pilot study. *J Lab Clin Med* 127(2): 223-228,1996. PMID: 8636652 DOI:10.1016/s0022-
2143(96)90082-7
- 7 Fox AD, Kripke SA, DePaula J, Berman JM, Settle RG, Rombeau JL: Effect of a glutamine-
supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *J Parenter Enteral Nutr.*
12(4):325-331,1998. PMID: 3138440 DOI:10.1177/0148607188012004325
- 8 Ziegler TR, Young LS, Benfell K, Scheltinga M, Hortos K, Bye R, Morrow FD, Jacobs DO,
Smith RJ, Antin JH, Wilmore DW: Clinical and metabolic efficacy of glutamine-supplemented
parenteral nutrition after bone marrow transplantation. *Ann Intern Med* 116(10):821-
828,1992. PMID: 1567096 DOI:10.7326/0003-4819-116-10-821

9 Kylo RL, Anadkat MJ: Dermatologic adverse events to chemotherapeutic agents, part 1: cytotoxics, epidermal growth factor receptors, multikinase inhibitors, and proteasome inhibitors. *Semin Cutan Med Surg* 33(1): 28-39,2014.

PMID: 25037256 DOI:10.12788/j.sder.0060

10 Amerongen AV, Veerman EC: Saliva—the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 8(1): 12–22,2002. PMID:11936451 DOI:10.1034/j.1601-0825.2002.1o816.x

11 Van Leeuwen SJM, Proctor GB, Laheij AMGA, Potting CMJ, Smits O, Bronkhorst EM, Hazenberg MD, Haverman TM, Brennan MT, von Bültzingslöwen I, Raber-Durlacher JE, Huysmans MCDNJM, Rozema FR, Blijlevens NMA: Significant salivary changes in relation to oral mucositis following autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 56(6): 1381-1390,2021. PMID:33420397 DOI:10.1038/s41409-020-01185-7

12 Jensen SB, Pedersen AM, Reibel J, Nauntofte B: Xerostomia and hypofunction of the salivary glands in cancer therapy. *Support Care Cancer* 11(4): 207–225,2003.

13 McCarthy GM, Awde JD, Ghandi H, Vincent M and Kocha WI: Risk factors associated with mucositis in cancer patients receiving 5-fluorouracil. *Oral Oncol* 34(6): 484–490,1998. PMID:9930359 DOI:10.1016/s1368-8375(98)00068-2

14 Keefe DM, Schubert MM, Elting LS, Schubert MM, Elting LS, Sonis ST, Epstein JB, Raber-Durlacher JE, Migliorati CA, McGuire DB, Hutchins RD, Peterson DE: Updated clinical practice guidelines for the prevention and treatment of mucositis. *Cancer* 109(5): 820-831,2007. PMID:17236223 DOI:10.1002/cncr.22484

15 Peterson DE, Bensadoun RJ, Roila F, ESMO Guidelines Working Group: Management of oral and gastrointestinal mucositis ESMO clinical recommendations. *Ann Oncol* 20: 174-177,2011. PMID:21908510 DOI:10.1093/annonc/mdr391

16 Bensinger W, Schubert M, Ang KK, Brizel D, Brown E, Eilers JG, Elting L, Mittal BB, Schattner MA, Spielberger R, Treister NS, Trotti AM: NCCN Task Force Report. Prevention and management of mucositis in cancer care. *J Natl Compr Canc Netw* 6: S1–21; quiz S22–24,2008. PMID:18289497

17 Scully C, Epstein J, Sonis S: Oral mucositis: a challenging complication of radiotherapy,

chemotherapy, and radiochemotherapy. Part 2: diagnosis and management of mucositis. *Head Neck* 26(1): 77-84,2004. PMID:14724910 DOI:10.1002/hed.10326

18 Online Ajinomoto Products Information, Elental®.
https://www.ajinomoto.co.jp/company/jp/aboutus/history/chronicle_2014/09.html.
Accessed online: 29 August 2021.

19 Yamamoto T, Nakahigashi M, Umegae S, Kitagawa T, Matsumoto K: Impact of elemental diet on mucosal inflammation in patients with active Crohn's disease: cytokine production and endoscopic and histological findings. *Inflamm Bowel Dis* 11(6): 580–588,2005. PMID:15905706 DOI:10.1097/01.mib.0000161307.58327.96

20 Johtatsu T, Andoh A, Kurihara M, Iwakawa H, Tsujikawa T, Kashiwagi A, Fujiyama Y, Sasaki M: Serum concentrations of trace elements in patients with Crohn's disease receiving enteral nutrition. *J Clin Biochem Nutr* 4(3): 197-201,2007. PMID:18299716 DOI:10.3164/jcfn.2007028

21 Yamamoto T, Nakahigashi M, Saniabadi AR, Saniabadi AR, Iwata T, Maruyama Y, Umegae S, Matsumoto K: Impacts of long-term enteral nutrition on clinical and endoscopic disease activities and mucosal cytokines during remission in patients with Crohn's disease: a prospective study. *Inflamm Bowel Dis* 13(12): 1493-1501,2007. PMID:17879280 DOI:10.1002/ibd.20238

22 Yamamoto T, Nakahigashi M, Umegae S, Kitagawa T, Matsumoto K: Impact of long-term enteral nutrition on clinical and endoscopic recurrence after resection for Crohn's disease: A prospective, non-randomized, parallel, controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 25(1): 67-72,2007. PMID:17229221 DOI:10.1111/j.1365-2036.2006.03158.x

23 Fukui T, Itoh Y, Orihara M, Yoshizawa K, Takeda H, Kawada S, Yoshioka T: Elental prevented and reduced oral mucositis during chemotherapy in patients esophageal cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 38(13): 2597–2601,2011. PMID:22189225

24 Ogata Y, Takeuchi M, Ishibashi N, Kibe S, Takahashi K, Uchida S, Murakami N, Yahara T, Shirouzu K: Efficacy of Elental on prevention for chemotherapy-induced oral mucositis in colorectal cancer patients. *Gan To Kagaku Ryoho* 39(4): 583–587,2012. PMID:22504682

25 Harada K, Ferdous T, Kobayashi H, Ueyama Y: Elemental diet accelerates the recovery from oral mucositis and dermatitis induced by 5-fluorouracil through the induction of fibroblast growth factor 2. *Integr Cancer Ther* 17(2): 423-430,2018. PMID:30655992 DOI:10.3892/mco.2018.1769

26 Harada K, Takenawa T, Ferdous T, Mizukami Y, Mishima K: Elemental diet directly affects chemotherapy-induced dermatitis and raw wound areas. *Mol Clin Oncol* 13(2): 209-215,2020. PMID:32699632 DOI:10.3892/mco.2020.2050

27 Harada K, Ferdous T, Horinaga D, Uchida K, Mano T, Mishima K, Park SC, Hanazawa H, Takahashi S, Okita A, Fukunaga M, Maruta J, Kami N, Shibuya K, Ueyama Y: Efficacy of elemental diet on prevention for chemoradiotherapy-induced oral mucositis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Support Care Cancer* 24(2): 953-959,2016. PMID:26248650 DOI:10.1007/s00520-015-2866-7

28 Harada K, Minami H, Ferdous T, Kato Y, Umeda H, Horinaga D, Uchida K, Park SC, Hanazawa H, Takahashi S, Ohota M, Matsumoto H, Maruta J, Kakutani H, Aritomi S, Shibuya K, Mishima K: The Elental® elemental diet for chemoradiotherapy- induced oral mucositis: A prospective study in patients with oral squamous cell carcinoma. *Mol Clin Oncol* 10(1): 159-167,2019. PMID:30655992 DOI:10.3892/mco.2018.1769

29 Matsui M, Motomura D, Karasawa H, Fujikawa T, Jiang J, Komiya, Y, Takahashi S, Maketo M: Multiple functional defects in peripheral autonomic organs in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor gene for the M3 subtype. *Proc Natl Acad Sci USA* 97(17): 9579-9584,2000. PMID:10944224 DOI:10.1073/pnas.97.17.9579

30 Saegusa Y, Ichikawa T, Iwai T, Goso Y, Ikezawa T, Nakano M, Shikama N, Saigenji K, Ishihara K: Effects of acid antisecretory drugs on mucus barrier of the rat against 5-fluorouracil-induced gastrointestinal mucositis. *Scand J Gastroenterol* 43(5): 531-537,2008. PMID:18415744 DOI:10.1080/00365520701811693

31 Ishii E, Yamada S, Higuchi S, Honjo, T, Igarashi H, Kanemitsu S, Kai T, Ueda K: Oral mucositis and salivary methotrexate concentration in intermediate-dose methotrexate therapy for children with acute lymphoblastic leukemia. *Med Pediatr Oncol* 175(5): 429-432,1989. PMID:2796859 DOI:10.1002/mpo.2950170514

- 32 Harrison T, Bigler L, Tucci M, L Pratt, Malamud F, Thigpen JT, Streckfus C, Younger H: Salivary sIgA concentrations and stimulated whole saliva flow rates among women undergoing chemotherapy for breast cancer: an exploratory study. *Spec Care Dentist* 18(3): 09–112,1998. PMID:9680920 DOI:10.1111/j.1754-4505.1998.tb00914.x
- 33 Dumbrigue HB, Sandow PL, Nguyen KH, Humphreys-Beher MG: Salivary epidermal growth factor levels decrease in patients receiving radiation therapy to the head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 89(6): 10–716,2000. PMID:10846125 DOI:10.1067/moe.2000.106343
- 34 Dens F, Boogaerts M, Boute P, Dedereck D, Demuyneck H, Vinckier F: Quantitative determination of immunological components of salivary gland secretion in transplant recipients. *Bone Marrow Transplant* 17(3): 21-4231,1996. PMID:8704698
- 35 Brown RA, Herzig RH, Wolf SN, Frei-Lahr D, Pineiro L, Bolwell BJ, Lowder JN, Harden EA, Hande KR, Herzig GP: High-dose etoposide and cyclophosphamide without bone marrow transplantation for resistant hematology malignancies. *Blood* 76(3): 473-479,1990. PMID:2378980
- 36 Ahmed T, Engelking C, Szalyga J, Helson L, Coombe N, Cook P, Corbi D, Puccio C, Chun H, Mittelman A: Propantheline prevention of mucositis from etoposide. *Bone Marrow Transplant* 12(2): 131-132,1993. PMID:8401358

7. 図

Figure 1

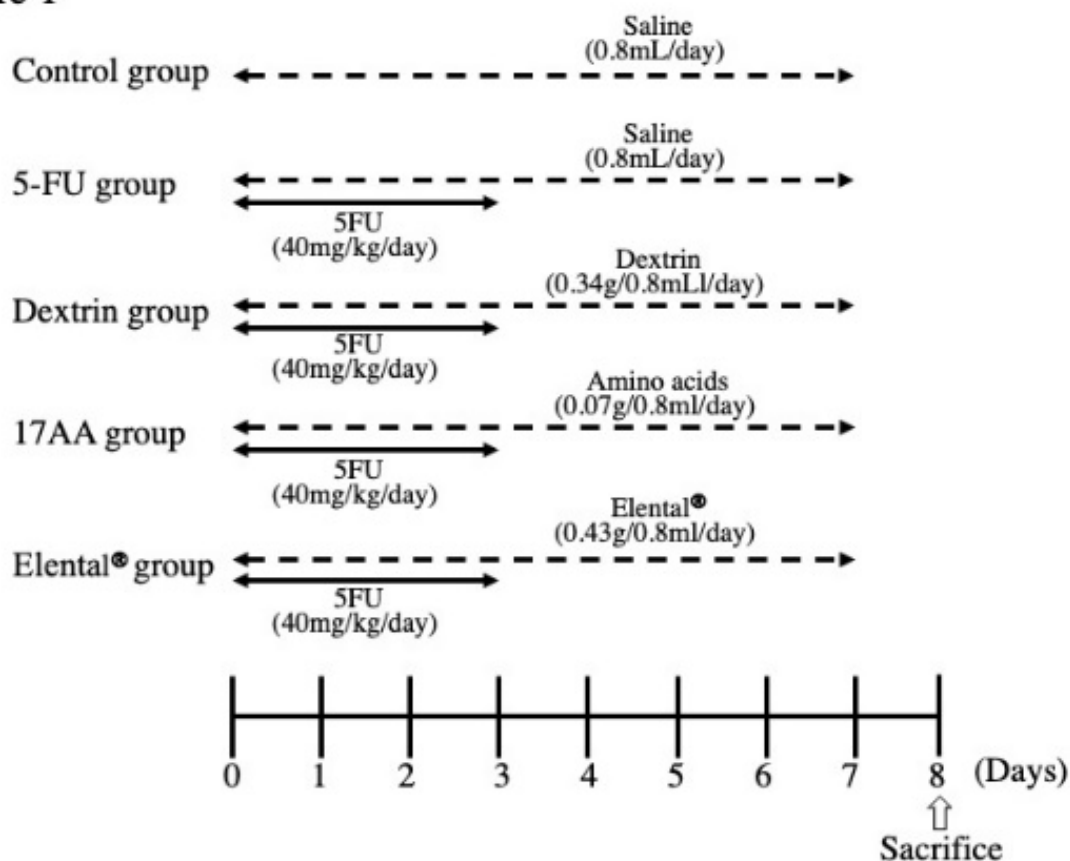


図1. 実験スケジュール。対照群を除くすべてのマウスに5-FU (40mg/kg/日)を4日間(0日目から3日目まで)腹腔内投与した。対照群および5-FU群マウスには生理食塩水(0.8ml/日)、エレンタール®群にはエレンタール®(0.43g/0.8ml/日)、デキストリン群にはデキストリン(0.34g/0.8ml/日)、17AA群マウスには17種類のアミノ酸の混合物(0.07g/0.8ml/日)を8日間(0日目から7日目まで)経口投与した。8日目にマウスを安楽死させた。

Figure 2A

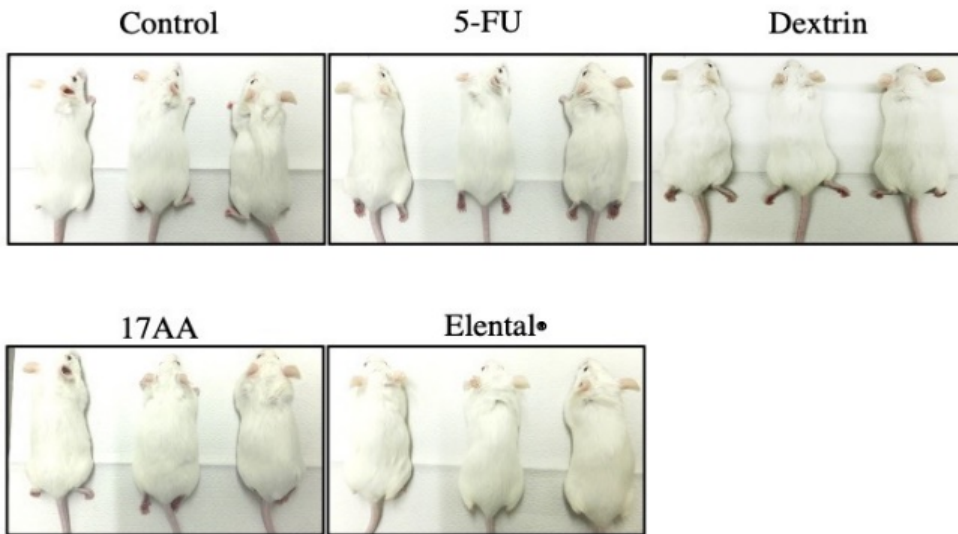


Figure 2B

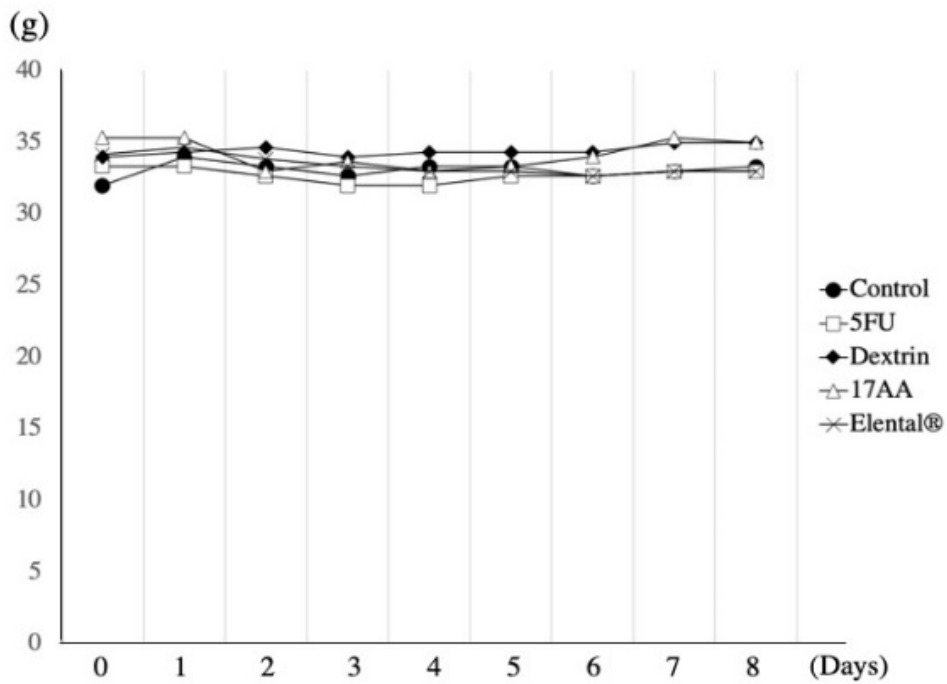


図2. エレンタール®またはエレンタール®成分がマウスの体重および形態に及ぼす影響。(A) マウスの写真。肉眼的には各群とも顕著な形態変化は認められなかった。(B)体重の変化。5-FU、エレンタール®およびエレンタール®成分は、マウスの体重に影響を与えなかった。各群間で体重の差は認められなかった。

Figure 3A

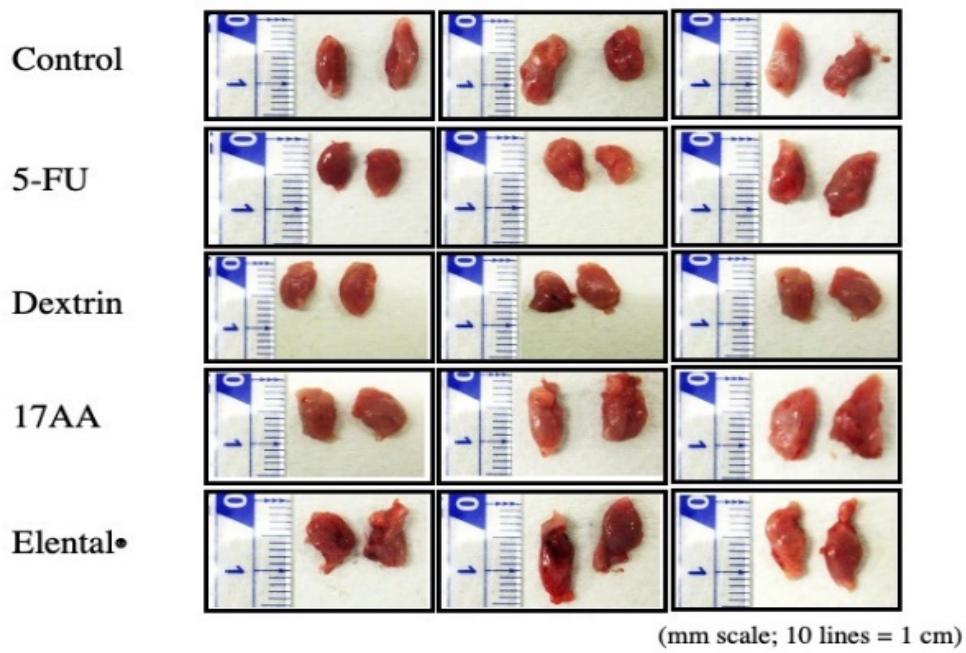
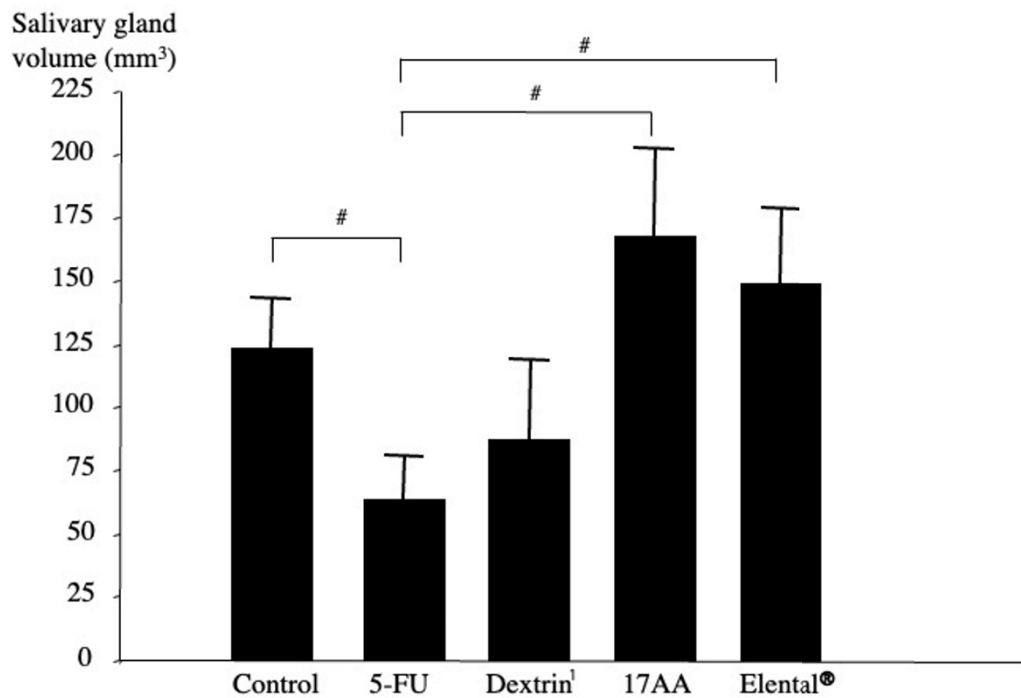
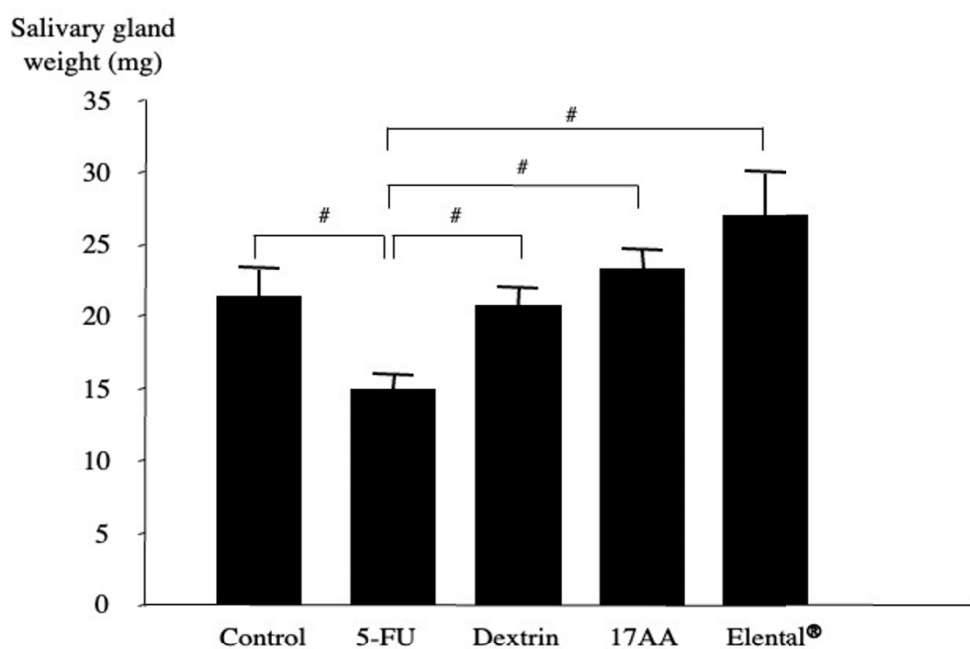


Figure 3B



#; $p < 0.01$; compared to the 5-FU group (Mann-Whitney U test)

Figure 3C



#; $p < 0.01$; compared to the 5-FU group (Mann-Whitney U test)

図3. エレンタール®またはエレンタール®成分の唾液腺への影響。(A) 顎下腺摘出時の写真。唾液腺の大きさは、5-FU群で最も小さかった。(B) 唾液腺の体積の変化。唾液腺の体積は、17AA群とエレンタール®群で他のすべての群よりも大きかった。(C) 唾液腺の重量の変化。唾液腺重量は、5-FU群に比べて全ての群で高かった。エレンタール®群の唾液腺の重量が最も重く、17AA群は2番目に重かった。

Figure 4A

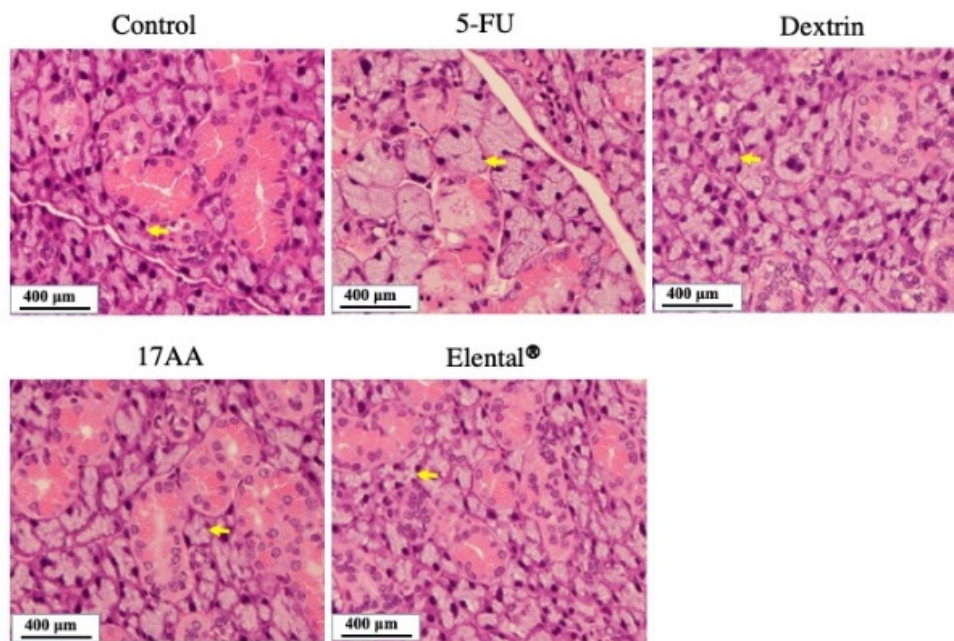
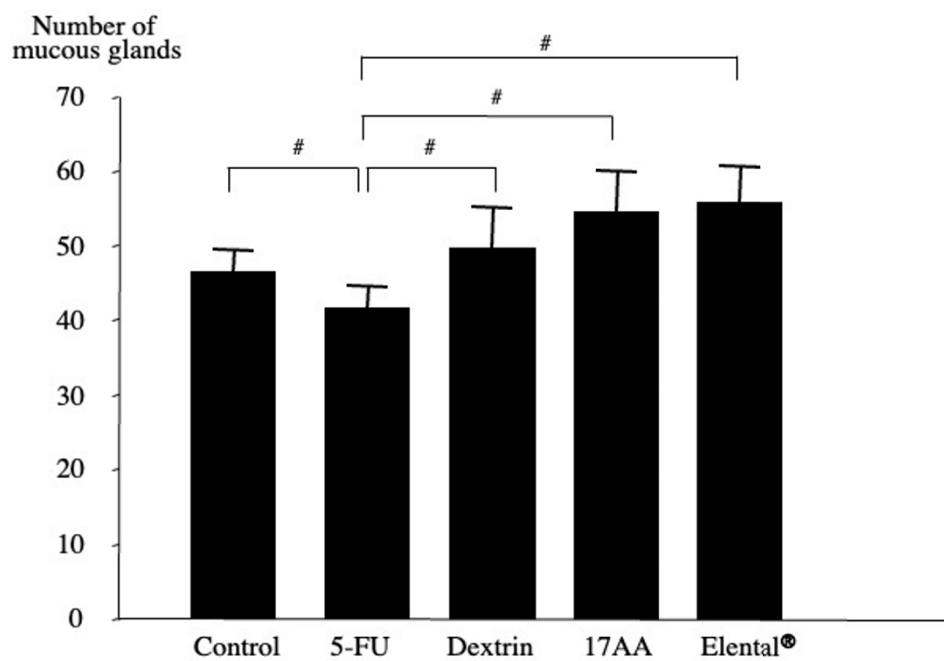


Figure 4B



#; $p < 0.01$; compared to the 5-FU group (Mann-Whitney U test)

Figure 4C

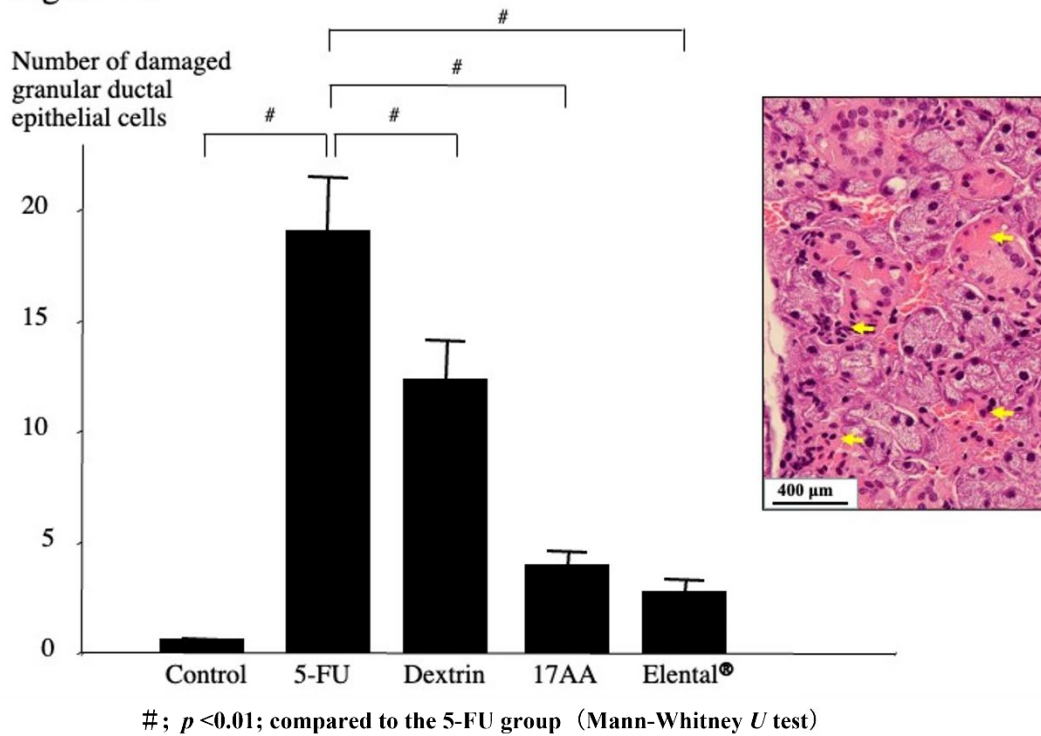
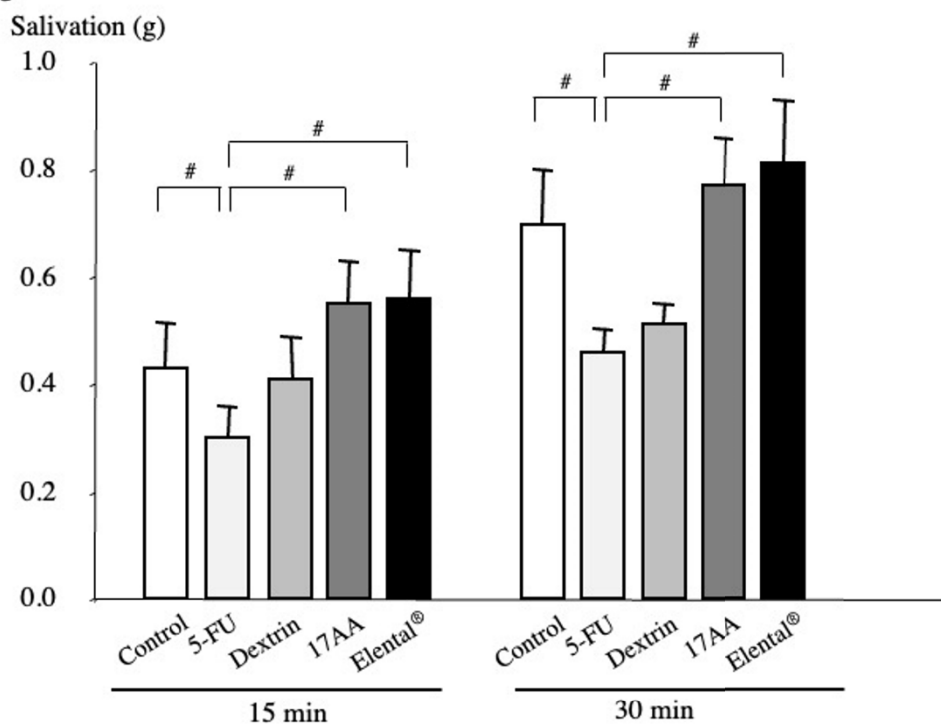


図4. マウスの唾液腺の組織学的変化。(A)HE染色。5-FU群の粘液腺の大きさは、他の群に比べて大きかった。黄色の矢印は唾液腺の粘液腺領域を示す。(B)粘膜腺数の変化。粘液腺の数は対照群、デキストリン群、17AA群、エレンタール®群が5-FU群よりも多く、17AA群とエレンタール®群が最も多かった。(C)損傷顆粒管上皮細胞数の変化。損傷顆粒管上皮細胞数は、5-FU群では全群に比べて多く、エレンタール®群と17AA群では最も少なかった。黄色の矢印は、5-FU処理後の顆粒管上皮細胞の消失または萎縮を示す。

Figure 5



#; $p < 0.01$; compared to the 5-FU group (Mann-Whitney U test)

図 5. 唾液分泌パターンの変化。5-FU 群ではピロカルピンによる唾液の反応が低下した。一方、ピロカルピン刺激後 15 分、30 分では、17AA 群、エレンタール®群ではデキストリン群に比べてピロカルピンによる唾液分泌量が増加した。