

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10145

研究課題名(和文) 抗酸化作用を強化した十全大補湯を用いて放射線性腸炎を予防する

研究課題名(英文) Prevention of radiation enteritis using Juzentaihoto enhanced anti-oxidant action

研究代表者

小山 文一 (Koyama, Fumikazu)

奈良県立医科大学・医学部・病院教授

研究者番号：40316063

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、黄耆を増量し抗酸化作用を強化した十全大補湯を用いて、ラット放射線性腸炎の予防効果を検討した。特にミトコンドリア機能に着目し、強化十全大補湯が放射線による腸管上皮ミトコンドリア障害を緩和させてアポトーシスを予防するか否かを検討した。強化十全大補湯は、ラット腸管上皮ミトコンドリアの抗酸化作用を増強し、放射線照射後の腸管上皮アポトーシス細胞数を減少させたが、放射線性腸炎の発症を予防する効果は示せなかった。

研究成果の概要(英文)：In this study, we examined the preventive and therapeutic effects on the rat radiation enteritis by Juzentaihoto which enhanced anti-oxidant action with increased Ougi (the modified Juzentaihoto). Especially focusing on the mitochondrial functions, we examined whether enhanced Juzentaihoto could prevent irradiation induced apoptosis of rat intestinal cells through preservation of the mitochondrial functions. Our data indicated that the modified Juzentaihoto could enhance the anti-oxidant activity of rat intestinal mitochondria and could reduce the number of apoptotic cell of rat intestinal cells after irradiation, yet could not prevent the intestinal injury from irradiation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：放射線性腸炎 十全大補湯 黄耆 漢方薬 ミトコンドリア

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 放射線性腸炎は、悪性腫瘍に対する放射線照射によって、消化管に難治性炎症が生じる医原性疾患である。腸管に潰瘍、狭窄、瘻孔を生じ、患者の Quality of Life を著しく損なう。根治的な治療法はなく、有効な予防・治療法の開発が切望されている。

(2) 本研究は、漢方薬を用いた放射線性腸炎に対する新規予防法の開発をめざすもので、その着想は以下の背景に基づく。放射線は、腸管上皮幹細胞をアポトーシスに陥らせ粘膜障害を起こし、潰瘍を形成する。放射線の影響は血管内皮細胞にも及び、腸管壁の血管構築を荒廃させ、血流低下をきたし、潰瘍の難治化や狭窄・瘻孔形成へ進展する。放射線性腸炎を予防するには、粘膜上皮幹細胞を保護し、障害粘膜の再生を促すと同時に、炎症を制御しつつ、荒廃した微細血管網を再構築する必要がある。十全大補湯は、人參、黄耆、蒼朮、茯苓、甘草、当歸、芍薬、地黄、川芎、桂皮という 10 種類の生薬からなる漢方薬で、消耗性疾患や手術後などの体力低下、衰弱に対して使用されている。生薬の効能として黄耆による抗酸化作用、蒼朮・黄耆による抗炎症作用、川芎・当歸・地黄による血液循環改善作用、人參・甘草・茯苓による滋養強壮作用、桂皮による保温作用が想定されている。実際、抗がん剤治療や抗ウイルス剤治療による骨髓抑制を改善する効果が検証されている (Integr Cancer Therapy 2005, J Gastroenterol 2004)。申請者は、十全大補湯の肝細胞における酸化ストレスからのミトコンドリア膜を保護作用に注目した (Int J cancer 2008, Natural Medicines 1997)。この作用は、十全大補湯に含まれる黄耆によるものと考えられる。我々は、ミトコンドリア膜を安定化させる Bcl-xL 遺伝子をマウス小腸に導入することで、腸管上皮の放射線誘発アポトーシスを抑制し、放射線性腸炎を軽減させることに成功した (J Genetic Syndrome & Gene Therapy 2014)。

(3) 以上から、十全大補湯には腸管上皮のミトコンドリア機能を高め、放射線によるアポトーシスを抑制して陰窩の脱落を緩和し、炎症を軽減し、破壊された血管網を再構築して放射線性腸炎を軽減させる作用を有する可能性があるかと推察した。同時に放射線による骨髓抑制を軽減させる効果と合わせて全身状態の改善効果も想定される。申請者は、抗酸化作用を有する黄耆を増量し抗酸化作用を強化した十全大補湯 (以下、強化十全大補湯) を作成して用いれば、放射線照射による腸管陰窩幹細胞の脱落を緩和し、血液循環改善作用と合わせて粘膜再生を促進できると推察した。

## 2. 研究の目的

(1) 抗酸化作用を有する黄耆を増量し抗酸化

作用を強化した十全大補湯を用いて、ラット放射線性腸炎に対する腸炎予防効果、腸炎の治癒促進効果を検討する。

(2) 特に細胞内ミトコンドリア機能に着目し、抗酸化作用強化十全大補湯が放射線照射による腸管上皮ミトコンドリアの機能障害を緩和させてアポトーシスを予防できるか否かを検討する。

(3) さらに全身の代謝の 1 つの指標である肝ミトコンドリア機能を維持できるか否かを検討し、抗酸化作用強化十全大補湯による効果が腸管局所にとどまらず、全身代謝を改善しうるか否かを検討する。

## 3. 研究の方法

当初、ゲル化剤を用いて、黄耆を増量することで抗酸化作用を強化した十全大補湯を含むラット特殊飼料の開発を行った。しかしながら、特殊飼料で飼育したラットの細胞内ミトコンドリアの抗酸化作用を検討したところ、特殊飼料飼育群と対象群 (通常飼料飼育群) で、腸管上皮ミトコンドリアと肝ミトコンドリアの抗酸化作用に差は認められなかった。この実験で、ラットが特殊飼料の漢方薬成分を残して飼料を食べ分けることが判明した。このため、以後の研究では、漢方薬の投与は直接経口投与方法とした。

(1) 黄耆を増量し抗酸化作用を強化した十全大補湯 (強化十全大補湯) の放射線性腸炎発症予防効果の検討

Wister 系ラットを A 群 (対照群: 無治療群)、B 群 (十全大補湯投与群)、C 群 (黄耆を増量し抗酸化作用を強化した十全大補湯投与群) に分けて漢方薬を直接経口投与し、15Gy の放射線照射を行った。照射後 7 日目に犠牲死させて、腸管粘膜組織障害の程度を比較した。また 20Gy の放射線照射を行い、各群間の生存率を検討した。

(2) 強化十全大補湯による放射線誘発アポトーシス抑制効果

A 群、B 群、C 群において、放射線照射 (0Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy) を行い、1 日目の腸管上皮アポトーシスを TUNEL 染色で検討した。

(3) 強化十全大補湯の腸管上皮ミトコンドリア抗酸化作用に及ぼす効果の検討

A 群、B 群、C 群において、漢方薬投与後に放射線照射 (0Gy、5Gy、10Gy、15Gy、20Gy) を行った。照射後 1 日目にラットを犠牲死させて腸管を摘出し、上皮組織を抽出し、腸管上皮ミトコンドリアの抗酸化作用を検討した。

(4) 強化十全大補湯の肝ミトコンドリア抗酸化作用に及ぼす効果の検討

A 群、B 群、C 群において、漢方薬投与後に放射線照射 (0Gy、5Gy、10Gy) を行い、1 日目、7 日目にラットを犠牲死させて肝臓を摘出し、肝ミトコンドリアの抗酸化作用を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 強化十全大補湯による放射線性腸炎発症予防効果

15Gy の放射線照射後の腸管粘膜障害は、A 群、B 群、C 群で差が認められなかった。

20Gy 照射後の生存率にも各群間で差は認められなかった。

残念ながら、強化十全大補湯での放射線性腸炎発症予防効果は検出できなかった。

##### (2) 強化十全大補湯による放射線誘発アポトーシス抑制効果

5Gy、10Gy の放射線照射では、C 群は A 群と比較して、腸管上皮アポトーシス数が有意に少なかった。C 群と B 群、B 群と A 群との間には有意な差は認められなかった。0Gy、15Gy、20Gy の放射線照射では、各群間で腸管上皮アポトーシス数に差は認められなかった。

強化十全大補湯は、低用量ないし中用量の放射線照射に対して、腸管上皮アポトーシスを抑制する効果を示した。高用量放射線照射では、腸管上皮アポトーシス抑制効果は確認できなかった。

##### (3) 強化十全大補湯の腸管上皮ミトコンドリア抗酸化作用に及ぼす効果の検討

0Gy、5Gy の放射線照射では、C 群は A 群と比較して、腸管上皮ミトコンドリアの抗酸化作用は有意に上昇した。C 群と B 群、B 群と A 群との間には有意な差は認められなかった。10Gy、15Gy、20Gy では、各群間に差は認められなかった。

強化十全大補湯は、比較的低用量の放射線照射に対して、腸管上皮ミトコンドリアの抗酸化作用を増強する効果を示した。中ないし高用量放射線照射では、抗酸化作用を増強する効果は認められなかった。

##### (4) 強化十全大補湯の肝ミトコンドリア抗酸化作用に及ぼす効果の検討

0Gy、5Gy 照射においては、B、C 群は A 群と比較して、1 日目の肝ミトコンドリア抗酸化作用は有意に上昇していた。C 群と B 群との間には有意な差は認められなかった。10Gy、15Gy、20Gy の 1 日目および全ての照射量の 7 日目においては、各群間に差は認められなかった。

十全大補湯ならびに強化十全大補湯は、健常ラットおよび比較的低用量の放射線照射に対して、肝ミトコンドリアの抗酸化作用を増強する効果を示した。この肝ミトコンドリアの抗酸化作用増強効果は、漢方薬の投与を中止すると、経時的に低下した。また中ない

し高用量放射線照射では、抗酸化作用を増強する効果は認められなかった。

以上の結果を総合すると、十全大補湯には、健常ラットの肝ミトコンドリアの抗酸化作用を増強する効果があることが示唆された。また強化十全大補湯には、肝のみならず腸管上皮ミトコンドリアの抗酸化作用を増強させる効果があることが示唆された。さらに強化十全大補湯には、低いし中用量の放射線による腸管上皮アポトーシスを抑制する効果を有する可能性が示された。しかしながら、放射線による腸管組織障害の予防効果、致死用量放射線に対する予後改善効果は確認できなかった。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

小山 文一 (KOYAMA Fumikazu)  
奈良県立医科大学 医学部 病院教授  
研究者番号：40316063

##### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

(3)連携研究者  
なし ( )

研究者番号：

(4)研究協力者  
なし ( )