

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 27 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009 年 ～ 2011 年

課題番号：21591622

研究課題名（和文）

放射線直腸粘膜障害に対する予防と治療 一直腸挿入亜鉛製剤の設計と評価

研究課題名（英文）

A prophylaxis and a treatment for radiation induced mucosal damage  
-Efficacy of zinc to radiation proctitis using an animal experimental model-

研究代表者

上紺屋 憲彦（KAMIKONYA NORIHIKO）

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：00185985

研究成果の概要（和文）：

現在までの成果は、放射線直腸障害動物実験モデルの確立と亜鉛製剤の作成・評価がなされた。実験動物による放射線直腸障害モデルは、麻酔下ラットに陽性造影剤注腸し倒立位にて腸管の下垂と直腸照射範囲の設定を確認でき、外科的処置を行うことなく、直腸に選択的に照射可能とした。照射後変化は内視鏡にて経時的に評価可能である。亜鉛化合物の設計、製剤化は、亜鉛化合物として亜鉛-Lカルノシン錯化合物、透視にて拡散・付着性の検討、白色ワセリン・ラノリン基剤とした軟膏とし、注射器にて肛門より無麻酔下にて確実に投与可能となった。

研究成果の概要（英文）：

Fifty-four female Wistar rats were used. All rats were irradiated with a single fraction of 25 Gy without any invasive procedures under pentobarbital anesthesia. Polaprezinc was prepared as ointment. Ointment was administrated rectally without any anesthesia each day after irradiation. All animals were sacrificed on the tenth day following irradiation. Colonoscopy was performed to evaluate the macroscopic findings immediately after sacrifice. The rectum was excised for a pathological evaluation following colonoscopy. The pathological evaluation assessed the morphological mucosal damage, the degree of inflammation, and the depth of inflammation. The results were graded from 0 to 4, and compared according to milder or more severe status as applicable. The PZ (+) group tended to show milder mucosal damage than the other groups in all criteria. In addition, significant differences were observed between the PZ (+) group and the Control group in the endoscopic findings, the degree of inflammation and the depth of inflammation. This model was confirmed to be a useful experimental rat model for radiation proctitis. The present study demonstrated the efficacy of Polaprezinc against acute radiation-induced rectal disorders using the rat model.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010 年度	600,000	180,000	780,000
2011 年度	600,000	180,000	780,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射線治療学、放射線障害

### 1. 研究開始当初の背景

骨盤部放射線治療は前立腺癌などにおいて著効を示し、急激な増加傾向にある。一方で放射線治療に伴う有害事象として放射線性腸炎は照射線量の増加と共に重篤となり、放射線治療患者 QOL の低下をきたしている。その中でも急性放射線粘膜障害は放射線治療中の患者に重篤な苦痛を与え、放射線治療そのものの続行を困難とするため、臨床問題となっている。放射線性腸炎に対する治療法は様々な報告があるが未だ確立されていないのが現状である。放射線による急性粘膜障害の発生機序は、照射部位で産生される活性酸素を介した粘膜細胞障害の関与が報告されている。近年、この活性酸素を介した粘膜細胞障害に対する亜鉛化合物の抗酸化作用、粘膜保護作用、創傷治癒促進作用が注目されている。我々の施設では、すでに放射線誘発口腔粘膜障害に対して亜鉛化合物を投与することにより、重症口腔粘膜障害発現率の明らかな抑制効果を確認し、放射線性口腔粘膜障害に対する亜鉛化合物の有効性と安全性を報告してきた。

### 2. 研究の目的

第一に肉眼病理学的・病理組織学的変化の評価可能な放射線性直腸粘膜障害の実験モデルラットを作成し、その実験系の確立を目指す。第二に亜鉛化合物を坐剤ないし軟膏として調製、製剤化し、それを放射線性直腸粘膜障害実験モデルラットの直腸内へ投与し、その有効性・安全性を評価する。

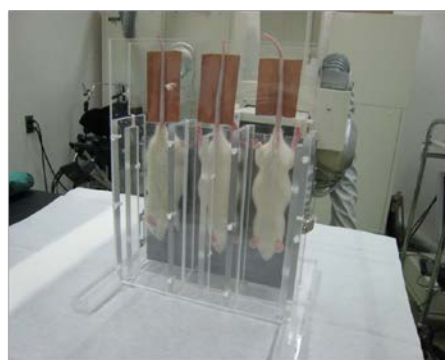
### 3. 研究の方法

6週齢ラットを用いガストログラフィンを用いた X線透視を行い、放射線照射が非開腹倒立位で直腸に対して選択的に可能であることを確認した (図 1)。

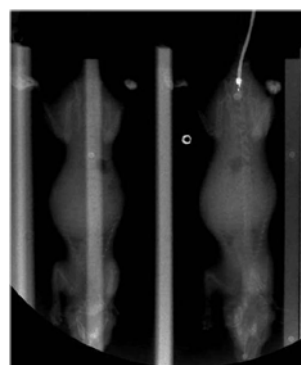


(図 1)

照射はペントバルビタールを腹腔内投与後、ラットを倒立させ、我々の作製した照射用固定具に尾をテープ固定 (図 2)。臓器を下垂させることで照射範囲内に腹腔内臓器が入ることを防ぐ。エネルギーは 4MeV 電子線。照射線量は 22Gy/fr の一回照射。照射線量は照射時にラット直腸内に半導体センサーを挿入し実測確認 (図 3)。



(図 2)



(図 3)

亜鉛製剤は当初ポラプレジンを坐剤として製剤し投与したが、ラット直腸温が麻酔下

では低下し、座剤が十分に融解せず、直腸粘膜に対して十分な付着を得ることができない可能性があると考えられ、剤形として軟膏を作成した。

軟膏の拡散・付着の検討は、白色ワセリンと精製ラノリンの混合物を基材とした硫酸バリウム製剤を直腸内に注入しX線透視をすることで行なった。(図4)。

(図4)

この際、軟膏はシリンジからシリコンチューブを介して無麻酔下にラットに投与した(図5)。



(図4)



(図5)

実験モデルの病理学的評価は、下痢・下血などの臨床症状を経時的に経過観察。照射後7日目に直腸内視鏡を行い、10日目で安楽死させて直腸を摘出。直腸粘膜を内視鏡および肉眼的に観察することで、直腸粘膜の変化を評価した(図6)。



(図6)

#### 4. 研究成果

(1) 亜鉛化合物を主薬とした坐剤の設計および製剤化。

我々は麻酔下でのラットの直腸温度を実測し、坐剤の融点の適合性を確認したところ、ラット平均直腸温は $34.9(\pm 1.0)$ 度と低下していた。ウイテプゾールを基材とした座剤の融解温度は $33.5\sim 35.5$ 度であり、麻酔による直腸温の低下によって、座剤が十分に融解せず、直腸粘膜に対して十分な付着を得ることができない可能性があると考えられ、剤形として軟膏を検討した。

軟膏の拡散・付着の検討は、白色ワセリンと精製ラノリンの混合物を基材とした硫酸バリウム製剤を直腸内に注入しX線透視をすることで行なった。直腸粘膜への軟膏の付着は投与直後、10分後ともに良好であった(図4)。この際、軟膏はシリンジからシリコンチューブを介して無麻酔下にラットに投与可能であった。剤形を軟膏にすることで、無麻酔下での薬剤の直腸内投与を可能にし、麻酔による影響を無くし、より安全で確実な投与が可能になると考

えられた。

(2) 放射線性直腸粘膜障害の実験モデルラットの作製とその病理学的評価の検討。

倒立照射の有効性確認では、臥位での X 線写真にて、ガストログラフィン注腸投与によりラット腸管が造影され、ついで倒立位での X 線撮影にて肛門より 3 cm において直腸以外の腸管は頭側に偏移していることを確認できた (図 1)。すなわち直腸が被照射臓器として十分照射可能であると確認した。ラットの照射および亜鉛製剤投与は全例安全に施行可能であった。

照射後の臨床症状は亜鉛製剤投与群で Grade 1 の障害を 3 例に認めたものの Grade 2 は認めなかった。亜鉛製剤非投与群では Grade 1 の障害を 4 例、Grade 2 の障害を 2 例に認めた。すなわち、肉眼的に出血を認めたものは亜鉛製剤非投与群のみであった。Grade 1 以下と Grade 2 以上の 2 群に分けての検討では、亜鉛投与群で軽症の傾向を認めたものの、有意差は認めなかった。すなわち臨床所見・内視鏡所見・標本所見とも亜鉛製剤を投与されなかった群で重篤な障害の率が高く、亜鉛投与群で軽症の傾向を確認したものの、摘出した直腸粘膜の肉眼所見での粘膜障害の比較では Grade 1 以下と Grade 2 以上で統計学的有意差は認められなかった。

有意差を認めなかった要因についてさらに検討が必要だが、照射線量、検査個体数も要因として考えられた。

#### 結語

動物実験モデルによる放射線性直腸障害作成およびその評価が安全かつ確実にできる実験系を構築できた。

動物実験モデル系への亜鉛製剤の安全で確実な投与方法を確立した。

軟膏による亜鉛製剤の投与により、急性期の

放射線性直腸粘膜障害に対する有効性が示唆された。

#### 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 5 件)

① 上紺屋憲彦、土井啓至、富士原将之、放射線治療に伴う粘膜障害は軽減できるか? 亜鉛製剤の有用性に迫る、口腔・咽頭科、査読有、24 巻、2011、29-34

② Doi H、Kamikonya N、Takada Y、et al、Efficacy of polaprezinc for acute radiation proctitis in a rat model、Int J Radiat Oncol Biol Phys、査読有、80 巻、2011、877-84、

DOI : 10.1016/j.ijrobp.2011.01.009

③ 志方敏幸、中村豪志、日笠真一、濱口常男、土井啓至、上紺屋憲彦、他、ポラプレジンク坐剤の品質試験と放射性直腸炎に対する臨床評価、医療薬学、査読有、36、2010、549-56

④ 土井啓至、上紺屋憲彦、高田康弘、富士原将之、放射線直腸炎に対する亜鉛製剤直腸内投与の初期経験、臨床放射線、査読有、55 巻、2010、443-449

⑤ 土井啓至、上紺屋憲彦、高田康弘、他、ラット放射線性直腸障害モデルを用いた亜鉛製剤の有効性の評価。日放腫会誌、査読有、21 巻、2009、149-154

[学会発表] (計 19 件)

① Doi H、Kamikonya N、Takada Y、Fujiwara M、Miura H、Inoue H、Tanooka M、Shikata T、Tsujimura T、Hirota S、Late rectal injury and microangiopathy after irradiation : A time sequential study in rats . ASTRO 2011.10.2-6、Miami

② Doi H、Kamikonya N、Takada Y、Fujiwara M、Miura H、Inoue H、Tanooka M、Shikata T、Tsujimura T、Radiation-induced microangiopathy in the rectum using an animal experimental model、European Multidisciplinary Cancer Congress、2011.9.23-27、Stockholm

③ Doi H、Kamikonya N、Takada Y、Fujiwara M、Tsuboi K、Miura H、Inoue H、Tanooka M、Nakamura T、Shikata T、Tsujimura T、Hirota S、Late rectal toxicity following irradiation in rats、European Society for Therapeutic Radiology and Oncology、2011.5.8-12、London

④ Doi H、Kamikonya N、Takada Y、Fujiwara M、Inoue H、Tanooka M、Nakamura T、Shikata T、Tsujimura T、Hirota S、Efficacy of Polaprezinc to Acute Radiation Proctitis

using an Animal Experimental Model、  
American Society for Radiation  
Oncology (ASTRO)、2010.10.31-11.5、San  
Diego

⑤ 上紺屋憲彦、放射線治療に伴う粘膜障害は  
軽減できるか?、第23回日本口腔・咽頭科  
学会総会、2010.9.16-17、東京

⑥ 上紺屋憲彦、放射線治療：消火器 2.直腸。  
(教育講演)、第69回日本医学放射線学会総  
会、2010.4.16-19、横浜

⑦ Kamikonya N、Doi H、Inoue H、Tanooka  
M、Takada Y、Fujiwara M、Tsuboi K、Hirota  
S、Shikata T、Kadobayashi M、Fundamental  
study of polaprezinc suppositories in the  
prevention of acute radiation proctitis in  
rats、ESMO、2009.9.20-24、Berlin

⑧ 土井啓至、放射線性直腸粘膜障害評価用の  
動物実験モデル作成と亜鉛製剤投与、第68  
回日本医学放射線学会総会、2009.4.16-19 横  
浜

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

上紺屋 憲彦 (KAMIKONYA NORIHIKO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：00185985

### (2) 研究分担者

富士原 将之 (FUJIWARA MASAYUKI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：90388827  
高田 康弘 (TAKADA YASUHIRO)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：20461048  
廣田 省三 (HIROTA SHOZO)  
兵庫医科大学・医学部・教授  
研究者番号：20181216  
前田 弘彰 (MAEDA HIROAKI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：00388828  
小林 薫 (KOBAYASHI KAORU)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：70388817  
山本 聡 (YAMAMOTO SATOSHI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：50411989

### (3) 連携研究者

土井 啓至 (DOI HIROSHI)  
兵庫医科大学・医学部・助教  
研究者番号：50529047